



**MARIA JOSÉ  
GONÇALVES ALVES**

**EPIDEMIOLOGIA DA TRICOMONIOSE E  
SENSIBILIDADE AO METRONIDAZOL**



**MARIA JOSÉ  
GONÇALVES ALVES**

**EPIDEMIOLOGIA DA TRICOMONIOSE E  
SENSIBILIDADE AO METRONIDAZOL**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Toxicologia, realizada sob a orientação científica do Dr. Agostinho Luís da Silva Cruz, Professor Coordenador da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Politécnico do Porto e do Dr. Mário Jorge Verde Pereira, Professor Auxiliar, do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho ao meu marido, pais e irmã pelo incansável apoio.

## **o júri**

presidente

**Professor Doutor Fernando José Mendes Gonçalves**

Professor associado com agregação do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

**Professora Doutora Maria Isaura Pinto de Sousa**

Professora auxiliar da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

**Professor Doutor Agostinho Luís da Silva Cruz**

Professor Coordenador da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Superior Politécnico do Porto

**Professor Doutor Mário Jorge Verde Pereira**

Professor auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

## **agradecimentos**

A todas as pessoas e instituições que directa ou indirectamente, contribuíram para o bom êxito deste trabalho, desejo expressar o meu mais profundo agradecimento.

Ao Professor Doutor Agostinho Cruz (orientador) e ao Professor Doutor Mário Pereira (co-orientador) pela orientação e estímulo prestados.

À Rita e ao Jorge por toda ajuda dispensada.

Aos meus pais e irmã, sempre presentes, amigos e confiantes de que sou o que me ensinaram a ser, muito obrigada.

Ao meu marido pela compreensão e incentivo.

No fundo, o Amor e a Amizade não se agradecem .....mas mesmo assim, Muito Obrigada!

## palavras-chave

*Trichomonas vaginalis*, epidemiologia, diagnóstico laboratorial, testes de sensibilidade.

## resumo

A *Trichomonas vaginalis* é o agente etiológico da tricomoniose, a doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum no mundo. Actualmente é sabido que promove a transmissão do vírus do HIV, é causa de baixo peso em bebés, bem como de nascimentos prematuros, predispõe mulheres a doença inflamatória pélvica atípica, neoplasia cervical e infertilidade. Acresce ao problema o facto de serem usadas metodologias de diagnóstico com baixa sensibilidade e ainda o aumento de casos resistentes ao metronidazol. Assim, os objectivos da presente dissertação versam um contributo para o estudo do conhecimento epidemiológico de *Trichomonas vaginalis* em mulheres, a avaliação da sensibilidade de duas metodologias de diagnóstico desta parasitose, o isolamento, a axenização e a determinação da sensibilidade ao metronidazol dos isolados obtidos. Para a pesquisa de *T. vaginalis* recorreu-se ao exame directo e cultural após recolha de uma amostra de exsudado vaginal em 288 mulheres sintomáticas e assintomáticas que frequentavam a consulta de planeamento familiar do Centro de Saúde (CS) Nº 1, CS Nº 2 e Hospital em Chaves. A sensibilidade dos isolados obtidos ao metronidazol foi determinada recorrendo à IC<sub>50</sub> e à determinação da CML. Das 288 mulheres que aderiram ao estudo encontravam-se com tricomoniose 11 (3,8%). Foram ainda avaliados diversos parâmetros sócio demográficos, sintomatologia, comportamento sexual e terapêutica anterior. No que respeita à metodologia os dados evidenciam uma baixa sensibilidade do método directo (36,3). Todos os isolados foram considerados sensíveis ao metronidazol. Em conclusão, é necessário reconsiderar o controlo epidemiológico desta DST, repensar na metodologia adoptada no diagnóstico laboratorial, aplicar terapêutica com base em testes de sensibilidade *in vitro*.

## keywords

*Trichomonas vaginalis*, epidemiology, laboratorial diagnostic, sensibility Assays

## abstract

The *Trichomonas vaginalis* is the etiologic agent of trichomoniose, the Sexually Transmitted Disease (DST) nonviral most common in the world.

Currently it is known to promote the transmission of the HIV virus, to be the cause of low weight in babies, as well as of premature births, predisposes women to atypical pelvic inflammatory illnesses, cervical neoplasia and infertility. It increases to the problem the fact that in use are methodologies of diagnosis with low sensitivity and also the increase of resistant cases to metronidazole. Thus, the purpose of the present dissertation consists in contributing to the study of the epidemiologist knowledge of *Trichomonas vaginalis* in women who attended the consultation of family planning of the health center (HC) N°1, HC N°2 and District Hospital in Chaves; evaluate the sensitivity of two methodologies of diagnosis of this parasitosis and determine the obtained sensitivity to metronidazole of the isolated ones.

A sample of vaginal discharge was collected in 288 symptomatic and asymptomatic women for research of *T. vaginalis* using the direct and cultural exams. The sensitivity obtained from the isolated ones to metronidazole was determined using the IC<sub>50</sub> and also the determination of the CML. Of the 288 women who adhered to the study 11 (3.8%) were found to have trichomoniose. Various sociodemographic parameters were evaluated, aspects referring to the methodology, sexual behaviour, and previous therapeutical behaviour. In what methodology is concerned, the data show a low sensitivity of the direct method (36.3). All the isolated ones were considered sensible to metronidazole. In conclusion, it is necessary to reconsider the epidemiologist control of this DST, to rethink the adopted methodology in the laboratorial diagnosis, apply therapeutic based on sensitivity tests *in vitro*.

# Índice

<b>Capítulo I Introdução geral .....</b>	<b>3</b>
Enquadramento do tema .....	4
Referências.....	7
<b>Capítulo II <i>Trichomonas vaginalis</i> - revisão.....</b>	<b>10</b>
Introdução.....	13
Morfologia da <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	14
Manifestações clínicas.....	16
Patogenicidade .....	18
Patogenese.....	21
Infertilidade.....	23
Gravidez.....	24
Neoplasia cervical .....	24
Transmissão .....	25
Diagnóstico Laboratorial .....	26
Epidemiologia .....	30
Tratamento de <i>T. vaginalis</i> .....	32
Tratamento com metronidazol, passado e presente .....	32
Tratamento em mulheres grávidas.....	34
Mulheres em fase de aleitamento .....	35
Tricomoniase neonatal .....	35
Efeitos colaterais do metronidazol .....	36
Mecanismos de acção dos nitroimidazóis (metronidazol).....	36
Papel dos hidrogenossomas .....	37
Mecanismos de Resistência ao metronidazol.....	38
Epidemiologia da resistência ao metronidazol.....	39
Estudos in vitro (metronidazol) .....	40
Alternativas à terapêutica em isolados metronidazol resistentes.....	42
Tinidazole.....	42
Ornidazole.....	43
Outros agentes terapêuticos .....	43
Cotrimoxazol .....	43
Furazolidona .....	43
Paromomicina .....	43
Sais de Zinco .....	44
Espermicidas.....	44
Vacinas com <i>Lactobacillus acidophilus</i> inactivados .....	44
Conclusões gerais .....	44
Referências.....	45
<b>Capítulo III Epidemiologia de <i>Trichomonas vaginalis</i> em mulheres.....</b>	<b>69</b>
Introdução.....	72
Material e Métodos .....	74
Tipo de estudo .....	74
População em estudo e amostra.....	74
Fase preparatória.....	74
Inquérito .....	74



Recolha e processamento das amostras .....	75
Métodos Estatísticos .....	75
Resultados.....	76
Frequência de tricomoniase .....	76
Idade .....	76
Estado civil .....	76
Grau de escolaridade .....	76
Sintomatologia .....	76
Comportamento sexual .....	77
Histórico do tratamento para o corrimento vaginal.....	77
Discussão .....	78
Referências.....	90
<b>Capítulo IV Avaliação da prevalência de <i>Trichomonas vaginalis</i> pelos método directo e cultural.....</b>	<b>96</b>
Introdução.....	102
Métodos .....	104
Local e Duração do estudo .....	104
População em estudo e amostra.....	104
Recolha e processamento das amostras .....	104
Análise Estatística .....	105
Resultados.....	106
Discussão .....	107
Referências Bibliográficas .....	109
<b>Capítulo V Sensibilidade de <i>Trichomonas vaginalis</i> ao metronidazol .....</b>	<b>113</b>
Introdução.....	118
Material e Métodos .....	120
Antiparasitários .....	120
Isolamento e axenização dos trofozoítos de <i>T. vaginalis</i> .....	120
Ensaio de sensibilidade.....	120
Análise estatística .....	121
Resultados.....	122
Discussão .....	123
Referências Bibliográficas .....	126
<b>Capítulo VI Discussão geral .....</b>	<b>131</b>
Discussão geral .....	132
Estudo epidemiológico .....	132
Avaliação da sensibilidade exame directo/exame cultural .....	133
Testes sensibilidade da <i>T. vaginalis</i> ao metronidazol .....	134
Referências Bibliográficas .....	135
<b>Anexo .....</b>	<b>137</b>

# **Capítulo I**

## **Introdução geral**

## **Introdução geral**

### ***Enquadramento do tema***

*Trichomonas vaginalis* é o agente etiológico da tricomoniose, a doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum no mundo (Gerbase et al., 1998). É um protozoário tipicamente elipsóide, piriforme ou oval. Infecta principalmente o epitélio escamoso do tracto genital (Lehker & Alderete, 2000). Apesar da elevada prevalência deste protozoário flagelado e dos riscos associados à tricomoniose sabe-se muito pouco acerca da sua variabilidade biológica (Bowden & Garnett, 1999). A tricomoniose é uma das doenças sexualmente transmitidas (DSTs) não viral mais comum em todo mundo, com uma incidência anual superior a 180 milhões de casos, estimando-se, nos Estados Unidos, a sua incidência em 7,4 milhões de casos por ano (Weinstock et al., 2004). Em Portugal, é diminuto o conhecimento e a investigação epidemiológica desta infecção. Garcia e colaboradores (2004) descrevem a incidência desta e a sua possível associação com factores sócio demográficos e com outras DSTs numa população prisional. Por esta razão é necessário desenvolver estudos sobre a prevalência desta parasitose noutros grupos populacionais de modo a contribuir para um melhor conhecimento da realidade desta infecção no nosso país.

Por não ser grande causador de sequelas, muitos clínicos têm considerado a doença mais um incómodo do que um problema de Saúde Pública, no entanto, este parasita tem-se destacado como um dos principais agentes patogénicos (Lehker & Alderete, 2000).

Embora a doença tenha sido diagnosticada e o protozoário descrito por Donné em 1836, só actualmente se descobriu que está associado a sérias complicações de saúde (Barrio et al., 2002). Vários investigadores (Laga et al., 1993; Fleming & Wesserheit, 1999; Sorvillo et al., 2001) mostraram que a *Trichomonas vaginalis* promove a transmissão do vírus de imunodeficiência humana (HIV), é causa de baixo peso em bebés, bem como de nascimentos prematuros (Cotch et al., 1997), predispõe mulheres a doença inflamatória pélvica atípica (Heine & McGregor, 1993), neoplasia cervical (Gram et al., 1992; Kharsany et al., 1993; Zhang & Begg, 1994) e infertilidade (Grodstein et al., 1993). A tricomoniose apresenta grande variabilidade de manifestações patológicas que vão desde a ausência de sintomas a um elevado risco de inflamação pélvica e infertilidade (Barrio et al., 2002). Mais de 25 a 50% das mulheres infectadas são assintomáticas e apresentam um pH vaginal de 3,8 a 4,2

bem como uma flora vaginal normal. O corrimento amarelo, abundante, espumoso e mucopurulento usado durante muito tempo como forma de diagnóstico ocorre em apenas 20% das mulheres com tricomoniase (Lehker & Alderete, 2000). Por outro lado os pontos hemorrágicos na parede cervical conhecidos como *colpitis macularis* ou cervix com aspecto de morango é visto somente em 2 a 5% das mulheres (Fouts & Kraus, 1980). Estes autores demonstraram que se o diagnóstico for feito apenas com base na sintomatologia, 88% das mulheres infectadas não são diagnosticadas. Deste modo, o diagnóstico nunca deve ser feito somente com base na sintomatologia clínica, sendo totalmente necessário recorrer ao diagnóstico laboratorial. O método laboratorial mais utilizado no diagnóstico da tricomoniase consiste na visualização da mobilidade do parasita através de um exame directo. Embora este método seja aquele que apresenta menores custos, maior rapidez no diagnóstico e facilidade com que pode ser usado, apresenta baixa sensibilidade (Wiese et al., 2000; Radonjic et al., 2006), no entanto continua a ser o método de eleição no diagnóstico da tricomoniase em Portugal. É urgente que seja demonstrada a limitação desta metodologia relativamente a outras no diagnóstico desta parasitose com intuito de substituir esta por outras mais sensíveis.

Para além do aumento da prevalência desta infecção e do uso de meios de diagnóstico com baixa sensibilidade outro problema é colocado relativamente ao tratamento desta parasitose devido à falência da terapêutica, por resistência ao fármaco utilizado (metronidazol) ou ao incumprimento da terapêutica prescrita. Embora o índice de cura pelo metronidazol seja excelente, frequentemente ocorrem falhas no tratamento devido à reinfeção ou à não adesão à terapia (Maciel et al., 2004). Em 1989 o CDC (Center for Diseases Control) detectou uma resistência de 5% dos isolados de *T. vaginalis* obtidos, o que representa uma média de 30.000 casos ao ano que não podem ser tratados com metronidazol (Lossick et al., 1989). Os casos de resistência ao metronidazol tornam-se problemáticos devido ao recurso a elevadas concentrações de fármacos e conseqüente risco de toxicidade (Petrin et al., 1998) e possível carcinogenicidade (Gerbase et al., 1998). Acresce ainda a capacidade daquele fármaco atravessar a barreira placentar, não sendo, por esse motivo, indicado no tratamento de mulheres no primeiro trimestre de gravidez. Torna-se assim cada vez mais importante e necessário que os laboratórios de parasitologia clínica forneçam informação detalhada sobre o padrão de susceptibilidade aos antiparasitários dos isolados clínicos.

## Objectivos

Tendo em consideração todos os aspectos referenciados anteriormente é importante o conhecimento não só da situação epidemiológica desta parasitose em Portugal, mas também a avaliação da metodologia usada no diagnóstico e ainda a taxa de resistência em isolados encontrados.

Assim, este trabalho teve como principais objectivos:

- ✓ Contribuir para o estudo do conhecimento Epidemiológico de *Trichomonas vaginalis* através de um estudo em mulheres que frequentam a consulta de planeamento familiar dos Centros de Saúde N° 1 e N° 2 de Chaves e Hospital em Chaves;
- ✓ Avaliar a sensibilidade de duas metodologias de diagnóstico (método directo/cultural) na determinação da prevalência de *Trichomonas vaginalis* em mulheres;
- ✓ Estudo *in vitro* do efeito do metronidazol, droga mais comumente usada no tratamento da *Trichomonas vaginalis*, nos isolados obtidos.

## Estrutura da dissertação

Esta dissertação é constituída por seis capítulos e respectivas referências bibliográficas.

O primeiro capítulo diz respeito a esta introdução correspondendo o segundo a uma revisão bibliográfica e os seguintes à prossecução dos objectivos supra enumerados. Estes estão apresentados na forma de artigos científicos submetidos ou a submeter para publicação em revistas científicas da especialidade.

O capítulo III consiste num estudo epidemiológico da *T. vaginalis* em mulheres que frequentam consultas de planeamento dos Centros de Saúde e Hospital em Chaves, com o intuito de estabelecer uma possível associação com características sociodemográficas, sintomatologia, comportamento sexual e tratamento anterior desta parasitose.

No capítulo IV é testada a sensibilidade das duas metodologias laboratoriais (método directo/cultural) usadas no diagnóstico da tricomoniose. Foi ainda propósito demonstrar a importância da utilização sequencial destas duas metodologias.

O capítulo V descreve o processo de axenização das culturas positivas e a realização dos testes de sensibilidade destes isolados ao metronidazol.

No último capítulo (VI) é efectuada uma discussão geral acerca dos aspectos mais relevantes dos resultados provenientes dos capítulos referidos anteriormente.

## Referências

**Barrio A. G., Ruiz J. N., Pereira D. M., Gallego E. R., Fernandez E. R., Escario J. A.** 2002. Biological variability in clinical isolates of *Trichomonas vaginalis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **97**:893-896.

**Bowden F. J. & Garnett G. P.** 1999. Why is *Trichomonas vaginalis* ignored?. *Sex Transm Infect*. **75**(6):372-374.

**Cotch M. F., Pastorek J. G. 2<sup>nd</sup>, Nugent R. P., Hillier S. L., Gibbs R. S., Martin D. H., Eschenbach D. A., Edelman R., Carey J. C., Regan J. A., Krohn M. A., Klebanoff M. A., Rao A. V., Rhoads G. G.** 1997. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex Transm Dis*. **24**(6):353-360.

**Donné M. A.** 1836. Animacules observes dans les matières purulents et le produit des sécrétions des organes génitaux l'homme et de la femme. *C R Acad Sci*. **3**:385-386.

**Fleming A. T. & Wesserheit J. N.** 1999. From epedemiological synergy to public health policy e practice: the contribution of other sexuaqlly transmited diseases to sexual tansmission of HIV infection. *Sex Transm Inf*. **75**:3-17

**Foust A. C. & Kraus S. J.** 1980. *Trichomonas vaginalis*: re-evaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J Infect Dis*. **141**:137-143.

**Garcia A., Exposto F., Prieto E., Lopes M., Duarte A., Correia da Silva R.** 2004. Association of *Trichomonas vaginalis* with sociodemographic factors and other STDs among female inmates in Lisbon. *Int J STD AIDS*. **15**(9):615-618.

**Gerbase A. C., Rowley J. T., Heymann D. H., Berkley S. F., Piot P.** 1998. Global prevalence and incidence estimates of selected curable. STDs. *Sex Transm Infect.* **74**:112-116.

**Gram I. T., Macaluso M., Churchill J., Stalsberg H.** 1992. *Trichomonas vaginalis* (TV) and human papillomavirus (HPV) infection and the incidence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grade III. *Cancer Causes Control.* **3**(3):231-236.

**Grodstein F., Goldman M. B., Cramer D. W.** 1993. Relation of tubal infertility to history of sexually transmitted diseases. *Am J Epidemiol.* **137**(5):577-584.

**Heine P. & McGregor J. A.** 1993. *Trichomonas vaginalis*: a reemerging pathogen. *Clin Obstet Gynecol.* **36**(1):137-144.

**Kharsany A. B., Hoosen A. A., Moodley J., Bagaratee J., Gouws E.** 1993. The association between sexually transmitted pathogens and cervical intra-epithelial neoplasia in a developing community. *Genitourin Med.* **69**(5):357-360.

**Laga M., Manoka A., Kivuvu M., Malele B., Tuliza M., Nzila N., Goeman J., Behets F., Batter V., Alary M.** 1993. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS.* **7**(1):95-102.

**Lehker M. W. & Alderete J. F.** 2000. Biology of trichomonosis. *Curr Opin Infect Dis.* **13**(1):37-45.

**Lossick. J. G.** 1989. Therapy of urogenital trichomoniasis. In Honigberg B.M.(ed.) *Trichomonads parasitic in Humans.* New York. Springer- Verlag, pp. 326-341.

**Maciel P. M., Tasca T., De Carli G. A.** 2004. Clinical aspects, pathogenesis and diagnostic of *Trichomonas vaginalis*. *J Bras Patol Med Lab.* **40**(3):152-160.

**Petrin D., Delgaty K., Bhatt R., Garber G.** 1998. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev.* **11**(2):300-317.

**Radonjic I. V., Dzamic A. M., Mitrovic S. M., Arsic Arsenijevic V. S., Popadic D. M., Kranjcic I. F.** 2006. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **126**(1):116-120.

**Sorvillo F., Smith L., Kerndt P., Ash L.** 2001. *Trichomonas vaginalis*, HIV, and African-Americans. *Emerg Infect Dis.* **7**(6):927-932.

**Weinstock H., Berman S., Cates Jr. W.** 2004. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspect Sex Reprod Health.* **36**(1):6-10.

**Wiese W., Patel S. R., Patel S. C., Ohi C. A., Estrada C. A.** 2000. A meta-analysis of the Papanicolaou smear and wet mount for the diagnosis of vaginal trichomoniasis. *Am J Med.* **108**(4):301-308.

**Zhang Z. F. & Begg C. B.** 1994. Is *Trichomonas vaginalis* a cause of cervical neoplasia? Results from a combined analysis of 24 studies. *Int J Epidemiol.* **23**(4):682-690.



## **Capítulo II**

### ***Trichomonas vaginalis* - revisão**

***Trichomonas Vaginalis* - revisão**

**Abstract** - The *T. vaginalis* is an elipsoide protozoan, the etiologic agent of the tricomoniose, sexually transmissible diseases (DST) nonviral most common in the world. Tricomoniose presents a wide variety of clinical manifestations, from an asymptomatic presentation to a state of severe inflammation. Of the infected women, between 25 and 50% are asymptomatic. This parasitosis is associated with several health complications such as premature births, low weights in babies, acquisition of the human immunodeficiency virus (HIV), cervical neoplasia and infertility. The sexual transmission of the *T. vaginalis* is unequivocal, as such the main factor of risk are the sexual relations. Clinical signals and symptoms of tricomoniose are neither sensible nor specific enough to be used separately as means of diagnosis that is, the laboratorial evaluation is essential in the diagnosis of this infection, allowing an adequate treatment and the control in the propagation of the infection. The World wide Organization of health esteemed that this infection explains almost 50% of all the DSTs with cure, with an annual incidence, superior to 180 million cases, in the whole world. Although the index of cure of metranidazol is excellent in the treatment of this parasatism, the cases of resistance to metronidazo I became problematic due to the resource to high concentrations of drug and to the risk of toxicity and possible carcinogenicity. It is preoccupying because all the existing drugs for the cure of the *T. vaginalis* are derived from the 5–nitroimidazol, as such, this problem should be observed and studied appealing to the sensitivity tests *in vitro* whenever clinical resistance to metronidazol occur.

**Keywords:** *Tricomonas vaginalis*, epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, sensitivity, metronidazol.

### ***Trichomonas Vaginalis* - revisão**

**Resumo** - A *T. vaginalis* é um protozoário elipsóide, o agente etiológico da tricomoniose, doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum no mundo.

A tricomoniose apresenta uma larga variedade de manifestações clínicas, desde a apresentação assintomática até um estado de severa inflamação. Das mulheres infectadas, entre 25 e 50% são assintomáticas. Esta parasitose está associada a várias complicações de saúde como nascimentos prematuros, baixo peso em bebês, aquisição de vírus de imunodeficiência humana (HIV), neoplasia cervical e infertilidade. A transmissão sexual da *T. vaginalis* é inequívoca, como tal o principal factor de risco são as relações sexuais. Sinais clínicos e sintomas de tricomoniose não são nem sensíveis nem específicos o suficiente para serem usados isoladamente como meio de diagnóstico isto é, a avaliação laboratorial é essencial no diagnóstico desta infecção, permitindo um tratamento adequado e o controlo na propagação da infecção. A Organização Mundial de saúde estimou que esta infecção explica quase 50% de todas as DSTs com cura, com uma incidência anual em todo o mundo superior a 180 milhões de casos. Embora o índice de cura do metronidazol seja excelente no tratamento desta parasitose, os casos de resistência ao metronidazol tornam-se problemáticos devido ao recurso a elevadas concentrações de fármacos, ao risco de toxicidade e possível carcinogenicidade. É preocupante porque todos os fármacos existentes para a cura da *T. vaginalis* são derivados dos 5-nitroimidazol, como tal, este problema deveria ser vigiado e estudado recorrendo a testes de sensibilidade *in vitro* sempre que ocorrem resistências clínicas ao metronidazol.

**Palavras-chave:** *Trichomonas vaginalis*, epidemiologia, diagnóstico, manifestações clínicas, sensibilidade, metronidazol.

## Introdução

A *Trichomonas vaginalis* é um protozoário elipsóide, piriforme ou oval, com quatro flagelos anteriores desiguais em tamanho e uma membrana ondulante (De Carli, 2000, 2001). É o agente etiológico da tricomoniose, doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum no mundo (Gerbase et al., 1998), apresentando uma incidência anual em todo o mundo superior a 180 milhões de casos (Weinstock et al., 2004).

A esta parasitose estão associadas sérias complicações de saúde (Barrio et al., 2002). Publicações recentes mostraram que o *Trichomonas vaginalis* promove a transmissão do vírus do HIV (Laga et al., 1993; Fleming & Wesserheit, 1999; Sorvillo et al., 2001) é causa de baixo peso em bebés, bem como de nascimentos prematuros (Cotch et al., 1997), predispondo mulheres a doença inflamatória pélvica atípica, (Heine & McGregor, 1993), neoplasia cervical (Gram et al., 1992; Kharsany et al., 1993; Zhang & Begg, 1994) e infertilidade (Grodstein et al., 1993).

Infecta principalmente o epitélio escamoso do tracto genital humano, sendo a sua transmissão venérea (Lehker & Alderete., 2000).

A evolução da doença cursa com um aumento do exsudado, prurido vulvar, cistite, disúria ligeira e por vezes odor vaginal anormal (Wolner – Hanssen et al., 1989). A tricomoniose apresenta uma larga variedade de manifestações clínicas, desde a apresentação assintomática até um estado de severa inflamação (Barrio et al., 2002). Das mulheres infectadas, entre 25 e 50% são assintomáticas, têm pH normal de 3,8 a 4,2 e flora vaginal normal (Petrin et al., 1998).

A elevada taxa de casos assintomáticos, bem como a associação da sintomatologia clínica com diversas DSTs sugerem que as manifestações clínicas não são parâmetros de diagnóstico fiáveis sendo as investigações laboratoriais essenciais no correcto diagnóstico da tricomoniose (De Carli, 1992; 2001).

O recurso ao exame directo para efectuar um diagnóstico laboratorial da tricomoniose falseia a prevalência desta parasitose, dada a baixa sensibilidade desta metodologia (Wendel et al., 2002). Deste modo os clínicos não devem aceitar diagnósticos laboratoriais tendo por base o exame directo (Soper, 2004).

Outro problema é colocado relativamente ao tratamento desta parasitose devido à resistência aos fármacos utilizados (metronidazol) e ao incumprimento da terapêutica prescrita. Embora o índice de cura que a toma do metranidazol possibilita seja excelente, ocorrem frequentemente falhas no tratamento devido à reinfeção ou à não adesão à terapia (Maciel et al., 2004) e à ocorrência de isolados resistentes a este fármaco. Os

pedidos efectuados aos centros de controlo de doenças e prevenção (CDC) para avaliação das resistências ao metronidazol em isolados clínicos aumentaram de 15 para 100 de 1995 a 2003 (Crowell et al., 2004). Além disso, os efeitos adversos do metronidazol podem ser bastante graves, impossibilitando em certas situações o uso do metronidazol.

Os casos de resistência ao metronidazol tornam-se problemáticos devido ao risco de toxicidade (Petrin et al., 1998) e possível carcinogenicidade (Gerbase et al., 1998).

Embora não seja um problema alarmante poderá vir a ser preocupante porque todos os fármacos de que dispomos actualmente para a cura da tricomoniose são derivados do 5-nitroimidazol, isto significa que apresentam o mesmo mecanismo de acção, como tal, este problema deveria ser vigiado e estudado (Kulda, 1999).

Chegou o momento de direccionar a atenção para esta doença sexualmente transmitida. O aumento da prevalência, o elevado número de casos assintomáticos e o aumento de resistências ao metronidazol obrigam a alguma acção no que concerne a estratégias de controlo.

### **Morfologia da *Trichomonas vaginalis***

A *Trichomonas vaginalis* é o parasita unicelular mais estudado das tricomonioses. Este urogenital patogénico varia em tamanho e forma, sendo o comprimento e espessura em média de 10 e 7µm respectivamente (Honigberg & King, 1964).

A morfologia do parasita é muito variável, apresenta desde aspectos piriformes semilunares, esféricos em meios líquidos, com uma actividade locomotriz muito intensa, até formas amebóides em meios sólidos, que como é óbvio diminuem a sua mobilidade. As alterações físico-químicas (pH, temperatura, tensão de oxigénio e força iónica) alteram a aparência do parasita, que não apresenta forma quística somente a trofozoíta (De Carli, 2000). Em culturas axénicas a forma deste protozoário tende a ser mais uniforme (forma de pêra), mas quando este está ligado às células do epitélio vaginal adopta uma forma mais amebóide (Arroyo et al., 1993; Heath et al., 1981).

A *T. vaginalis* possui quatro flagelos anteriores desiguais em tamanho e uma membrana ondulante que adere ao corpo. O axóstilo é uma estrutura rígida e hialina, formada por microtúbulos, que se projecta através do centro do organismo, prolongando-se até à extremidade posterior. Pensa-se que esta estrutura permite ancorar o parasita às células do epitélio vaginal. Os flagelos e a membrana flutuante dão a este parasita uma mobilidade característica (De Carli, 2000; Petrin et al., 1998). Sob condições pouco

favoráveis ao crescimento a *T. vaginalis* pode interiorizar o flagelo. Estas formas podem ser pseudoquistos, no entanto é mais provável que sejam formas degenerativas de *T. vaginalis*, visto que não parecem desempenhar um papel importante nos mecanismos de resistência (Honigberg et al., 1990).

O núcleo é elipsóide, próximo à extremidade anterior e apresenta tal como outros eucariotas um invólucro nuclear (Petrin et al., 1998; De Carli, 2000). O citoplasma apresenta grande variedade de vacúolos e vesículas relacionadas com processos de endocitose, digestão e transporte, assim como retículo endoplasmático rugoso, ribossomas livres, polissomas e grânulos de glucogénio formando grandes rosetas. A membrana citoplasmática do parasita parece ser uma estrutura de grande interesse, já que a sua composição bioquímica pode estar relacionada com a sua patogenicidade (Warton & Honigberg, 1983).

Este protozoário é desprovido de mitocôndrias, no entanto apresenta grânulos densos que foram catalogados de hidrogenossomas porque produzem hidrogénio (Petrin et al., 1998; De Carli, 2000). São esféricos de 0,5 a 1µm e parecem formar-se por divisão dos preexistentes (Nielsen & Diemer, 1976). Estes hidrogenossomas são análogos às mitocôndrias dos eucariotas e levam a cabo muitas das mesmas funções metabólicas (Müller, 1992).

Estudos bioquímicos sobre hidrogenossomas revelam semelhanças e diferenças com a mitocôndria. A piruvatoferredoxinaoxidoreductase (PFO) não existe na mitocôndria, mas no hidrogenossoma converte o piruvato em acetato (Kerscher & Oesterheldt, 1982). No que a isto diz respeito, o metabolismo da *T. vaginalis* no hidrogenossoma está mais relacionado com o das bactérias anaeróbias (Müller, 1992). Contudo a análise da proteína ferredoxina da *T. vaginalis*, mostra ser comparável às ferredoxinas encontradas nas bactérias aeróbias e em mitocôndrias (Johnson et al., 1990).

Apesar das diferenças entre os dois organelos, estes levam a cabo funções muito semelhantes. Se por um lado alguns investigadores acreditam que os hidrogenossomas são modificados ou degeneraram da mitocôndria (Cavalier-Smith, 1987), outros acreditam que estes surgiram de um organelo ancestral comum (Gunderson et al., 1995).

Apesar dos hidrogenossomas serem característicos da *T. vaginalis*, as suas funções podem não ser essenciais para o parasita, visto que a *T. vaginalis* sem hidrogenossomas pode ser cultivada *in vitro* (Steinbuchel & Müller, 1986).

A *T. vaginalis* divide-se por fissão binária, com divisão nuclear pleuomitótica. Podem existir divisões nucleares múltiplas, antes que ocorra a citocinese. É um fenómeno que se

tem vindo a associar à existência de condições ambientais desfavoráveis (Honigberg & Brugerole, 1990).

É um organismo anaeróbio facultativo, que cresce bem na ausência de oxigénio, na faixa de pH compreendida entre 5 e 7,5 e em temperaturas entre 20°C e 40°C (De Carli, 2000). Esta alimenta-se por pinocitose e por fagocitose, formando-se vacúolos de diversos tamanhos. O processo é mais activo nos  $2/3$  posteriores da célula. A capacidade do protozoário para ingerir bactérias tem levado a considerar a possibilidade de este ser um transportador de microrganismos incompletos fagocitados para o tracto genital superior (Keith et al., 1986).

Pensa-se que a fonte essencial de energia da *T. vaginalis* é a glicose que estimula fortemente o seu crescimento, bem como a maltose e a galactose (De Carli, 2000). Tem a capacidade de manter o glicogénio em reserva como fonte de energia, este ponto é importante porque o ambiente vaginal é constantemente modificado por variações de pH, hormonas, menstruação entre outros. Sem dúvida que os hidratos de carbono são a principal fonte de obtenção de energia para *T. vaginalis*, no entanto, em condições adversas aquando estes compostos são limitados, a utilização dos aminoácidos torna-se essencial. Nestas circunstâncias, a *T. vaginalis* consome especialmente arginina, treonina e leucina (Petrin et al., 1998). É um parasita comprometido porque lhe falta a habilidade para sintetizar muitas macromoléculas particularmente purinas e perimidinas e muitos lípidos. Estes nutrientes são adquiridos das secreções vaginais ou através da fagocitose de células bacterianas (Heine & McGregor, 1997; Huggins & Preti, 1981).

### **Manifestações clínicas**

Embora a tricomoniose tenha sido diagnosticada e o protozoário descrito por Donné em 1836, só actualmente se descobriu que está associado a sérias complicações de saúde (Barrio et al., 2002).

Infecta principalmente o epitélio escamoso do tracto genital humano, sendo a sua transmissão venérea (Lehker & Alderete, 2000).

A tricomoniose apresenta uma larga variedade de manifestações clínicas, desde a apresentação assintomática até um estado de severa inflamação (Barrio et al., 2002).

Das mulheres infectadas, entre 25 e 50% são assintomáticas, têm pH normal de 3,8 a 4,2 e flora vaginal normal (Petrin et al., 1998). Um terço das mulheres assintomáticas tornam-se sintomáticas dentro de seis meses (Lehker & Alderete., 2000; Rein & Müller 1990).

É uma doença de idade reprodutiva e raramente as manifestações clínicas da infecção são observadas antes da menarca ou após a menopausa. O período de incubação é de 4 a 28 dias em 50% dos indivíduos infectados (Petrin et al., 1998).

A evolução da doença cursa com um aumento do exsudado, prurido vulvar, cistite, disúria ligeira e por vezes odor vaginal anormal (Wolner – Hanssen et al., 1989). A consistência do fluxo vaginal varia de acordo com o paciente, de fino e escasso a espesso e abundante, isto porque a origem deste fluxo depende da flora bacteriana associada. O decréscimo na concentração de *Lactobacillus acidophilus*, observado *in vitro* em cultivos com *T. vaginalis*, demonstra a interacção do parasita com a flora vaginal e poderá explicar a diminuição que ocorre na tricomoniose (McGrory et al., 1994).

O corrimento amarelo, abundante, espumoso e mucopurulento que durante muito tempo foi usado como forma de diagnóstico sabe-se actualmente que ocorre em apenas 20% das mulheres com tricomoniose (Lehker & Alderete, 2000).

Por outro lado, os pontos hemorrágicos na parede do cervix conhecidos como *colpitis macularis* ou cervix com aspecto de morango, é visto somente em 2 a 5% das mulheres (Foust & Kraus, 1980).

Em alguns casos pode haver lesões hipogástricas (Rein & Müller, 1990), assim como invasões genitourinárias, como a glândula de Bartholin, trompas de falópio, glândulas de Skene e mesmo bexiga (Keith et al., 1986).

Foram descritas localizações pouco comuns como a parte inferior do tracto urinário, ureteres e pelvis renal (Trussell et al., 1947; Chappaz & Bertrand, 1965), no entanto a hipótese mais provável é considerar pouco habitual a presença do parasita no tracto urinário (Soszka et al., 1973).

A severidade da tricomoniose pode também induzir estados citopatológicos de displasia/metaplasia (Lopez et al., 2000), já que a infecção foi detectada frequentemente em mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical (Gram et al., 2005; Kharsany et al., 1993).

Zhang e Begg em 1994 demonstraram que o risco de neoplasia praticamente é duplicado em mulheres com *T. vaginalis*.

Em 1995 Yap e seus colaboradores demonstraram que em mais de 40% dos pacientes com cancro cervical invasivo foram detectados anticorpos produzidos contra a *T. vaginalis*. Pensa-se que o impacto da tricomoniose não é limitado a vaginites, o micoplasma e *Neisseria gonorrhoeae* são fagocitadas pela *T. vaginalis* e também segmentos de RNA viral têm sido encontrados em certas linhagens dos parasitas. Deste modo, é possível que o protozoário possa actuar como vector para outros patogénios (Cotch et al., 1997).



Apesar da infecção por *Trichomonas* ser vista primeiramente como uma doença feminina, também se verifica em homens. A tricomoniose em homens é altamente assintomática por isso estes são denominados portadores assintomáticos. O homem é o vector da doença, a *T. vaginalis* pode sobreviver por mais de uma semana no prepúcio do homem sadio (De Carli, 2000). Esta elevada taxa de homens assintomáticos poderá ser devida ao facto de alguns destes homens apresentarem concentrações elevadas de zinco no esperma sendo este altamente tóxico para a *T. vaginalis* (Krieger et al., 1982)

A elevada taxa de casos assintomáticos, bem como a associação da sintomatologia clínica com diversas DSTs sugerem que as manifestações clínicas não são parâmetros de diagnóstico fiáveis sendo as investigações laboratoriais essenciais no correcto diagnóstico da tricomoniose (De Carli, 1992; 2001)

## Patogenicidade

Embora a tricomoniose seja considerada um grave problema de saúde pública, a sua patogenicidade ainda não foi bem caracterizada. Já foi demonstrada a implicação de diversos processos: aderência célula-célula (Alderete et al., 1995), hemólise (Krieger et al., 1983; Dailey et al., 1990; Fiori et al., 1993), excreção de factores solúveis, tais como as proteínas extracelulares (Arroyo & Alderete, 1989) e 'cell-detaching factor' (CDF) (Garber et al., 1989).

A sua patogenicidade depende também de características do hospedeiro como: nível de estrogénios, sistema imunitário, assim como as condições do tracto urogenital (pH, flora, glucogénio vaginal). Assim, a propagação da *T. vaginalis* na vagina é iniciada com um pH superior ao normal, redução concomitante dos *Lactobacillus acidophilus* e aumento da propagação de bactérias anaeróbias (Petrin et al., 1998).

A resposta imune celular e humoral são evidentes em pacientes com tricomoniose, embora nem sempre se verifique, o aumento no número de leucócitos polimorfonucleares pode ser facilmente detectado em secreções. Num contacto inicial entre *T. vaginalis* e leucócitos ocorre a formação de pseudópodes, ocorrendo a interiorização e degradação de células imunes nos vacúolos fagocitários do parasita (Lehker et al., 1991).

A realidade é que a relação hospedeiro-parasita é muito complexa, e a vasta gama de sintomas clínicos não podem ser atribuídos a um único mecanismo patogénico.

A membrana celular da *T. vaginalis* parece desempenhar um papel importante na patogenicidade do parasita visto que as glicoproteínas superficiais e as proteínas

presentes na membrana intervêm na adesão, na interacção hospedeiro-parasita e na incorporação de nutrientes (Petrin et al., 1998).

A aderência da *T. vaginalis* às células epiteliais da vagina é um passo crítico na sua patogenicidade (Alderete & Pearlman, 1984; Alderete & Garza, 1985; Krieger et al., 1985). A fixação do parasita às células depende do tempo, temperatura e pH. Porém a possibilidade de exercer patogenicidade em cultura de células epiteliais na ausência de citoaderência merece ser considerada, já que produtos secretados pelos parasitas, como glicosidases e CDF, em meios de cultura, parecem ser altamente tóxicos para as células epiteliais (Lopez et al., 2000).

A adesão do parasita às células epiteliais parece ser mediada por quatro proteínas (adesinas): AP65, AP51, AP33, AP23 (Engbring et al., 1996; Alderete, 1988). A síntese destas proteínas parece ser regulada pela ligação a células epiteliais e pelo ferro (Garcia et al., 2003; Alderete et al., 1998). A expressão de adesinas na superfície do parasita é alternada com a expressão de P270, uma proteína altamente imunogénica. Essa alternância na expressão parece ser um mecanismo utilizado pelo parasita para iludir o sistema imune (Lopez et al., 2000).

O ferro apresenta ainda a capacidade de modular as proteinases. Estas proteínas além de características citotóxicas e hemolíticas têm a capacidade de degradar as imunoglobulinas IgG, IgA, IgM presentes na vagina (Lopez et al., 2000; Petrin et al., 1998).

A capacidade hemolítica do parasita também pode estar relacionada com a sua virulência, já que a *T. vaginalis* não pode sintetizar lípidos, os eritrócitos podem ser a fonte prioritária de ácidos gordos. Os parasitas metabolicamente activos são capazes de hemolisar eritrócitos, especialmente a pH 4,5 valor normal na vagina (Fiori et al., 1993). A lise dos eritrócitos parece ser mediada por receptores da membrana dos eritrócitos e o parasita, ocorre em três fases distintas: 1-interacção ligando receptor, 2-libertação de proteínas do tipo porfirinas (cisteína-proteases) que abrem poros nas membranas eritrocitárias, 3-separação do parasita e lise do eritrócito (Rosset et al., 2002; Lopez et al., 2000).

Para além dos mecanismos contacto dependentes terem um papel importante na patogenicidade da célula, não se deve descartar a importância dos mecanismos contacto-independentes. A citotoxicidade não pode ser explicada somente por mecanismos contacto dependentes, dado que estes efeitos podem ser vistos na ausência de contacto célula- célula (Pindak et al., 1993; Garber et al., 1990).

Estudos demonstraram que o CDF causa efeitos citopatogénicos em células cultivadas *in vitro*. Actualmente, sabe-se que o CDF não é um factor extracelular, trata-se de uma

glicoproteína que simplesmente não actua em pH inferiores a 4,5, sendo o valor de pH crucial na proliferação da infecção (Gerbase et al., 1990).

Assim, os níveis de CDF podem ser correlacionados com a severidade dos sintomas clínicos da vaginite. A produção de CDF é ainda influenciada pela concentração de estrogénios na vagina, visto que, *in vitro*, a produção de CDF pelas *T. vaginalis* diminui na presença de estradiol. Tudo isto pode explicar porque a aplicação de peletes de estradiol intravaginais parece melhorar os sintomas mas não elimina a infecção, bem como o agravamento dos sintomas durante a menstruação, quando os níveis de estrogénio estão mais baixos (Garber et al., 1991).

Num ambiente hostil, muitas vezes a *T. vaginalis* tem a capacidade de sobreviver e mesmo de se multiplicar. Este facto verifica-se porque tem a capacidade de evadir o sistema imune humano. Há muito se sabe que a *T. vaginalis* activa a via alternativa do complemento. Actualmente sabe-se que este parasita se tem aproveitado de um habitat pobre em complemento, isto porque o muco cervical é surpreendentemente deficiente em complemento. O sangue menstrual é assim, a única fonte de complemento disponível na vagina. Curiosamente, a actividade do complemento no sangue menstrual é cerca de metade da do sangue venoso, e cerca de um terço das amostras do sangue menstrual não têm nenhuma actividade do complemento. Embora se registre uma descida no número de parasitas devido à citotoxicidade do complemento, a infecção persiste mesmo depois do período menstrual. Isto acontece porque muitos factores de virulência mediados pelo ferro aumentam, contribuindo para a exacerbação dos sintomas nesta fase (Alderete et al., 1995; Demes et al., 1988). O ferro contribui para a resistência ao complemento por regular a expressão de cisteína-proteases, que degradam a porção C3 do complemento depositada sobre a superfície do organismo. Além disso, a *T. vaginalis* pode auto-revestir-se de proteínas plasmáticas do hospedeiro. Esse revestimento impede que o sistema imune reconheça o parasita como estranho (Petrin et al., 1998).

## Patogenese

### Transmissão vírus HIV

Diversos estudos publicados associam a *T. vaginalis* a uma variedade de consequências adversas de saúde em mulheres e homens, incluindo a transmissão do vírus HIV. Mesmo que a tricomoniose contribua apenas para um pequeno aumento da transmissão do vírus, pelo facto de esta infecção ser tão comum, as estratégias de controlo, que visão diminuir a *T. vaginalis*, podem ter um efeito importante na redução da aquisição do HIV (Soper, 2004).

Sorvillo e seus colaboradores (2001) demonstraram que a *T. vaginalis* é um importante co-factor na propagação do vírus e causa grande impacto sobre a epidemia de HIV nas comunidades afro-americanas aumentando tanto a susceptibilidade de um parceiro não infectado como a infecciosidade de indivíduos infectados. A infecção por *T. vaginalis* provoca o aparecimento de uma resposta agressiva do sistema imune a nível local ocorrendo uma infecção do epitélio vaginal e do exocervix em mulheres e da uretra nos homens (Sardana et al., 1994). Esta resposta desencadeia uma grande infiltração de leucócitos, incluindo células alvo do HIV, como linfócitos CD4 e macrófagos, aos quais o HIV se liga (Levine et al., 1998; Kiviat et al., 1985). Para além disso, esta causa frequentemente pontos hemorrágicos na mucosa, permitindo acesso directo do vírus à corrente sanguínea, aumentando as portas de entrada do HIV em indivíduos HIV-negativos (Sorvillo et al., 2001). Do mesmo modo, em pessoas infectadas por HIV, os pontos hemorrágicos e a inflamação podem aumentar os níveis de vírus nos fluidos corporais e o número de linfócitos e macrófagos infectados pelo HIV presentes na região genital. Isso resulta num aumento do vírus livre e ligado a leucócitos, expandindo a porta de saída do vírus, aumentando em oito vezes a probabilidade de exposição e transmissão em parceiros sexuais não infectados (Sorvillo et al., 2001). Um outro fenómeno que pode promover a transmissão do HIV traduz-se no facto de a *T. vaginalis* ter a capacidade de degradar o inibidor de proteases leucocitárias, conhecido por bloquear o ataque do HIV às células (Draper et al., 1998).

A incógnita se a tricomoniose precedia o aparecimento do HIV ou vice versa foi desvendada por Laga e seus colaboradores (1993) no Zaire onde 431 prostitutas HIV-negativas foram avaliadas ao longo do tempo. Verificou-se que a infecção prévia da *T.*

*vaginalis* esteve associada com um aumento de 2 vezes na taxa de seroconversão do HIV.

Magnus e colaboradores demonstraram em 2003 que a tricomoniose é uma DST comum entre mulheres HIV infectadas. Recentemente, mais um estudo foi publicado referente às áreas rurais do Zimbabwe permitiu verificar que o risco de ter HIV aumenta entre as mulheres com *T. vaginalis*. Relação estatisticamente significativa entre HIV e infecção por *T. vaginalis* (Mason et al., 2005). Também mulheres grávidas HIV-positivas têm uma prevalência de tricomoniose mais elevada relativamente a mulheres grávidas HIV-negativas (Sutton et al., 1999; Leroy et al., 1995).

Trabalhos desenvolvidos nesta área testemunham que talvez o tratamento da *T. vaginalis* possa ser uma importante estratégia na redução do HIV. Wang e seus colaboradores (2001) avaliaram o efeito do tratamento de infecções vaginais num grupo de mulheres seropositivas. Entre mulheres com *T. vaginalis* um tratamento de 10 dias com metronidazol oral resultou numa redução de 4,2 vezes na quantidade de células livres de vírus HIV-1 em secreções vaginais. Contudo, nenhuma mudança significativa na prevalência do DNA do HIV foi verificada. O tratamento da vaginose bacteriana não teve nenhum efeito nem na quantidade de células livres de HIV-1, nem tão pouco no DNA do HIV-1.

A associação da tricomoniose com o aumento do HIV também parece ser observado entre os homens. Um estudo recente sugere que a tricomoniose inflamatória sintomática pode causar um aumento de HIV nos exsudados e no sêmen. Hobbs e seus colaboradores (1999) estudaram o efeito da infecção por *T. vaginalis* na excreção do HIV num grupo de homens Malaios com e sem uretrite. Os homens HIV-positivos com uretrites causadas por *T. vaginalis* tinham uma concentração 6 vezes superior de vírus no seu sêmen comparados com homens HIV positivo mas sem tricomoniose. Além disso, o tratamento de uretrites bem sucedido causadas por *T. vaginalis* reduz os níveis de DNA do HIV para valores similares aos de doentes não infectados por tricomoniose (Price et al., 2003).

Embora, diversos estudos demonstrem algum tipo de associação entre *T. vaginalis* e HIV, *in vivo*, em 2003 foi publicado um estudo sobre a interacção *in vitro* entre partículas e linfócitos infectados por HIV e *T. vaginalis*. Neste estudo incubaram *T. vaginalis* com o Vírus HIV-1 e com linfócitos HIV-1 infectados e analisaram as interacções através de um microscópio de imunofluorescência e electrónico de transmissão. Estes concluíram que as partículas de HIV- 1 podem ser incorporadas dentro da *T. vaginalis* através de vesículas de endocitose, e são degradadas em vacúolos citoplasmáticos em aproximadamente 48h .

Assim, apesar de a *T. vaginalis* interiorizar partículas de HIV, não é visível qualquer tipo de replicação do vírus no seu interior (Rendon- Maldonado et al., 2003).

Um outro estudo publicado recentemente, também realizado *in vitro* identificou dois mecanismos que poderão contribuir para explicar a associação epidemiológica entre a tricomoniose e a transmissão do vírus HIV-1. O rompimento da monocamada do epitélio urogenital pela *T. vaginalis* pode facilitar a passagem do HIV às camadas subjacentes. Por outro lado, a activação de células imunes locais pela *T. vaginalis* na presença de HIV pode provocar um aumento da replicação viral (Guenthner et al., 2005).

Muitos outros estudos teram que ser desenvolvidos nesta área para se poder perceber qual a relação entre HIV e tricomoniose.

### **Infertilidade**

Alguns estudos têm vindo a mostrar que a *T. vaginalis* pode ser um factor importante na infertilidade entre homens e mulheres (Han, et al., 2004; El-Shazly et al., 2001; Martinez-Garcia et al., 1996).

Pensa-se que a *T. vaginalis* possa funcionar como um vector de transporte de outros microrganismos até às trompas de falópio (Graves et al., 1993)

A adesão e oclusão tubária são estimadas como a causa de aproximadamente 20% dos casos de infertilidade em países desenvolvidos. A *T. vaginalis* está relacionada com doença inflamatória pélvica, pois esta infecta o tracto urinário superior, causa resposta inflamatória que destrói a estrutura tubária, e danifica as células ciliadas da mucosa tubária, inibindo deste modo a passagem de espermatozóides ou óvulos através das trompas de falópio (Grodstein et al., 1993).

Em 2001 El-Sharkawy e seus colaboradores detectaram uma taxa mais elevada de mulheres infectadas por *T. vaginalis* em mulheres inférteis (14,6%) comparativamente com mulheres grávidas controladas (2,5%). Rivero e seus colaboradores (2002), demonstraram uma elevada prevalência de tricomoniose em casais que recorreram à consulta de infertilidade. Concluíram que existia uma relação estatisticamente significativa entre infertilidade e presença de *T. vaginalis*.

Após o doseamento de C3 e C4 no exsudado vaginal de mulheres com *T. vaginalis*, El-Sharkawy e seus colaboradores (2000) concluíram que estes estavam diminuídos, e a IgA e a prolactina estavam aumentadas no soro.

Jarecki-Black (1988) e seus colaboradores desenvolveram um estudo em homens inscritos num programa de fertilização *in vitro*, nos quais foi verificado se a presença de *T.*

*vaginalis* alterava ou não as características do sémen. O sémen dos homens com *T. vaginalis* apresentava uma descida significativa tanto na mobilidade como na viabilidade relativamente aos homens controlo. Dos homens com *T. vaginalis*, após terapia com metronidazol foram observadas melhorias significativas na mobilidade, viabilidade e viscosidade. Assim, os autores concluíram que alguns casos de infertilidade se devem à tricomoniase e que o tratamento pode restaurar a fertilidade.

### **Gravidez**

Partos prematuros e baixo peso ao nascer representam problemas de saúde pública nos EUA, particularmente entre mulheres negras. Grávidas infectadas por *T. vaginalis* têm alto risco de desenvolver complicações durante a gravidez (Cotch et al., 1997).

Cotch e seus colaboradores em 1997 relataram uma associação entre a tricomoniase e a ruptura prematura da membrana, parto prematuro, baixo peso ao nascer, endometrite pós-parto, e morte neonatal. Há no entanto dados limitados, se o tratamento da tricomoniase com metronidazol durante a gravidez reduz os resultados adversos (Soper, 2004). Klebanoff e seus colaboradores (2001) demonstraram que o tratamento com metronidazol em mulheres grávidas com tricomoniase assintomática não preveniu parto prematuro. Na realidade as mulheres tratadas com este fármaco apresentavam maior prevalência de partos prematuros (19%) relativamente a mulheres tratadas com placebo (10,7%). Recentemente (2003) um estudo publicado por Kigozi e colaboradores comprovaram que mulheres com *T. vaginalis* tratadas com metronidazol apresentavam um aumento de nascimentos prematuros, um aumento da taxa de mortalidade dos recém nascidos e peso mais baixo comparativamente com os recém-nascidos de mulheres com *T. vaginalis* que não foram tratadas.

Assim o rastreio é a melhor estratégia, permitindo o tratamento da tricomoniase assintomática antes da gravidez (Soper, 2004).

### **Neoplasia cervical**

A *T. vaginalis* pode ser um factor de risco para o desenvolvimento da neoplasia cervical (Yap et al., 1995; Viikki et al., 2000).

Um estudo mais recente (2002) investigou a presença de anticorpos para a *T. vaginalis* no qual, em 48 mulheres com neoplasia cervical 9 (18,75%) tinham *T. vaginalis*. No grupo controlo a *T. vaginalis* estava presente em apenas 5% das mulheres. Os autores

concluíram neste estudo que a quantidade de mulheres infectadas por *T. vaginalis* é 3 vezes mais elevado que no grupo controlo (Sayed et al., 2002).

## Transmissão

A transmissão sexual da *T. vaginalis* é inequívoca, como tal o principal factor de risco são as relações sexuais, apresentando assim a doença uma maior incidência em pessoas que mantêm relações com diferentes parceiros sexuais (Mason et al., 2005). A *T. vaginalis* pode sobreviver por mais de uma semana sob o prepúcio do homem sadio após o coito com uma mulher infectada. Deste modo, o homem é o vector da doença: com a ejaculação, as *T. vaginalis* presentes na mucosa da uretra são levadas à vagina pelo esperma. Assim, o tratamento dos parceiros sexuais masculinos de mulheres infectadas melhora a taxa de cura e de reinfeção (De Carli, 2000). Embora o protozoário apresente elevada sensibilidade a altas temperaturas e à luz solar devido à inexistência de uma forma quística, ela consegue sobreviver durante algumas horas sob altas condições de humidade, como por exemplo em piscinas, espéculos, sanitas de casas de banho contaminadas, tendo-se comprovado a viabilidade do organismo durante 3 horas na urina e 6 horas no sémen (Rein et al., 1995; De Carli, 2000). Assim, ainda que teoricamente, o referido anteriormente pode ser uma possível fonte de contágio.

Nos recém nascidos a tricomoniose pode ocorrer durante a passagem através do canal de parto, em consequência da infecção materna, isto verifica-se ou porque a mãe era assintomática ou porque não fez terapêutica contra a parasitose durante a gestação (Kharsany et al., 1993). Aproximadamente 5% das neonatas podem adquirir tricomoniose verticalmente a partir de mães infectadas. Na altura do parto o epitélio escamoso da vagina da recém nascida sofre a acção de estrogénios maternos e pode permitir a colonização de parasitas. Este efeito hormonal desaparece em poucas semanas após o parto, tornando o ambiente vaginal resistente à invasão do parasita. Desta forma, os bebés têm condições de eliminar espontaneamente o parasita, sendo muitas vezes desnecessário o tratamento já que a infecção é auto-limitada (Consolaro et al., 1999; Rein, 1995). Assim, o diagnóstico de uma tricomoniose em crianças antes da puberdade deve complementar-se com uma investigação de possíveis abusos sexuais, desde que seja rejeitada inicialmente a hipótese de infecção congénita (Maciel et al., 2004).



## Diagnóstico Laboratorial

Sinais clínicos e sintomas de tricomoniose não são nem sensíveis nem específicos o suficiente para serem usados isoladamente como meio de diagnóstico (Sobel, 1997). Foust e Kraus (1980) demonstraram que se a clínica fosse usada isoladamente para o diagnóstico da tricomoniose, 88% das mulheres infectadas não seriam diagnosticadas e 29% das mulheres sem tricomoniose seriam falsamente indicadas como tendo infecção.

Os dados sugerem que é necessária e essencial a investigação laboratorial para o diagnóstico da tricomoniose, uma vez que as manifestações clínicas não são parâmetros de diagnóstico fiáveis, e só recorrendo ao diagnóstico laboratorial a que é possível o tratamento apropriado e o controlo de propagação da infecção (Petrin et al., 1998).

O diagnóstico laboratorial da tricomoniose tem dependido tradicionalmente da observação microscópica da mobilidade do protozoário em secreções vaginais e do cervix, um procedimento que foi descrito por Donné em 1836. Quando se verificam *T.vaginalis* móveis, este método tem um elevado grau de especificidade (>95%); consequentemente um resultado negativo não elimina a possibilidade de tricomoniose (Lossick & Kent., 1991). Embora este método seja aquele que apresenta menores custos, maior rapidez no diagnóstico e facilidade com que pode ser usado, apresenta sensibilidade limitada entre 60 a 70% (Krieger et al., 1988). Um estudo realizado por Madico e seus colaboradores (1998) demonstraram que mesmo sendo realizado à cabeceira do doente a sua sensibilidade era apenas de 36%. Wendel e seus colaboradores (2002) demonstraram uma sensibilidade do exame directo de somente 52%. Em 2006 Radonjic e seus colaboradores compararam diferentes metodologias (exame directo, cultura, PCR, Laranja Acridina) na pesquisa de tricomoniose em 200 mulheres. O exame directo apresentava uma sensibilidade de 66,7% comparado com a sensibilidade (81,0%) da PCR que não excedeu a cultura. Esta variação na sensibilidade entre os diferentes trabalhos relativamente ao exame directo depende da perícia do microscopista, transporte adequado, e processamento laboratorial antes do parasita sofrer lise ou a perda de mobilidade (Heine & McGregor, 1993). Outros trabalhos realizados no âmbito do diagnóstico laboratorial da tricomoniose demonstram baixa sensibilidade do exame directo relativamente a outras metodologias (Churakov et al., 2005; Brown et al., 2004; Negm & El-Haleem 2004; Rivero et al., 2002).

Embora mais dispendioso que o exame directo, o método de cultura é sem dúvida o “padrão de ouro” para o diagnóstico porque é simples de interpretar e requer apenas 300

a 500 *Trichomonas vaginalis* por ml de inóculo para iniciar o crescimento. A cultura em meio Diamond tem a capacidade de identificar até 95% das infecções por *Trichomonas vaginalis*, alcançando tanto um elevado grau de sensibilidade (85-95%) como de especificidade (>97%). Contudo há limitações inerentes ao diagnóstico utilizando o método cultural, que se traduzem no atraso em fazer o diagnóstico, já que este exige um período de incubação de 2 a 7 dias necessário para identificar o parasita, tempo durante o qual os pacientes infectados continuam a disseminar a infecção (De Carli et al., 1993, 2001; Petrin et al., 1998; Robert et al., 1993).

Outra alternativa seria primeiro fazer uma triagem recorrendo ao exame directo, seguida pela cultura das amostras se os resultados fossem negativos pelo teste anterior (Sorvillo et al., 2001). Recentemente (2005) Sakru e seus colaboradores, demonstraram que esta metodologia pode ser muito útil no diagnóstico da *T. vaginalis*; em 93 mulheres apenas 3 foram detectadas pelo método directo e pela cultura, sendo as restantes 5 positivas detectadas somente pelo método cultural. Quando o exame microscópico é positivo, a terapêutica poderá ser desde logo administrada ao paciente antes mesmo do resultado da cultura (De Carli., 2001). Negm e El-Haleem (2004) concordam que todos os resultados negativos no directo têm que ser confirmados pela cultura ou mesmo por PCR.

O sistema de cultura InPouchTV, no mínimo tão sensível como o método de cultura tradicional, tem-se mostrado uma alternativa eficiente e de baixo custo (De Carli, 2001; Ohlemeyer et al., 1998).

Porque os métodos de cultura são relativamente lentos e o exame directo têm falta de sensibilidade foram utilizadas técnicas de coloração para efectuar o diagnóstico do parasita. As técnicas de coloração como Laranja de Acridina (Fripp et al., 1975), Leishmania (Levett et al., 1980), e Fontana (Nagesha et al., 1970), têm sido usadas para melhorar a sensibilidade da visualização ao microscópio. Em 2006 foi publicado um estudo no qual a Laranja de Acridina apresentava maior sensibilidade que o exame directo, sendo mesmo referido pelo autor que esta metodologia têm potencial para substituir o exame directo no screening da *T. vaginalis* (Radonjic et al., 2006).

O papanicolau (PAP), detém uma apelação considerável no diagnóstico da tricomoniase porque é rotineiramente usado em exames ginecológicos com intuito de detectar anomalias citológicas. Lobo e seus colaboradores em 2003 demonstraram que o PAP apresentava um número considerável de falsos resultados positivos ou falsos negativos com uma sensibilidade de apenas 60,7%. Todos estes resultados sugerem que os parasitas com formas irregulares, sem núcleo e sem flagelos claramente definidos, bem como a lise induzida por bactérias no parasita limitam a habilidade do PAP na detecção da

*T. vaginalis*. Não só o papanicolau mas todas as técnicas de coloração têm as suas limitações dado que a *T. vaginalis* nem sempre aparece na sua forma típica de pêra com flagelos. Frequentemente aparece com formas arredondadas podendo ser confundida com um leucócito polimorfonuclear, por outro lado as características morfológicas típicas são perdidas durante a fixação e coloração, tornando a coloração etiológica difícil (Lobo et al., 2003).

As limitações da cultura e dos métodos microscópicos para a detecção de *T. vaginalis* incitaram o avanço de métodos mais sofisticados que podem detectar anticorpos, antigénios, ou ácidos nucleicos em exsudados vaginais e uretrais (Petrin et al., 1998).

Há 8 serotipos observados de *T. vaginalis* (Ackers et al., 1990); contudo numa análise imunoblot, uma grande variedade de marcadores antigénicos são observáveis. Várias técnicas incluindo aglutinação, fixação de complemento, hemaglutinação indirecta, difusão em gel, anticorpos fluorescentes e 'enzyme-linked immunosorbent assay' (ELISA) têm sido usadas para demonstrar a presença de anticorpos anti-trichomonas (Jaakmees et al., 1966; Mason et al., 1979; Mathews et al., 1983; Sibau et al., 1987). Num estudo recente, Adu-Sarkodie e seus colaboradores em 2004 demonstraram que técnicas de aglutinação com látex apresentavam maior sensibilidade (98,8%) relativamente ao exame directo (81,4%), sendo a especificidade ligeiramente mais elevada para o método directo. Contudo, a resposta por anticorpos depende de vários factores, como natureza do antigénio, a forma livre ou inactiva, a concentração no local e a duração da estimulação do sistema imune, fazem com que estes testes apresentem várias desvantagens inerentes. Em certas situações o anticorpo não é detectado porque a resposta do sistema imune do hospedeiro não foi concluída ou porque estes métodos apresentam baixa sensibilidade e não conseguem detectar baixas concentrações de anticorpos, ou mesmo porque os anticorpos tricomoniais podem persistir durante algum tempo depois do tratamento, sendo difícil distinguir infecções correntes de infecções anteriores (Petrin et al., 1998).

As técnicas de DNA recombinante têm sido cada vez mais usadas para melhorar a sensibilidade e especificidade de diagnóstico da *T. vaginalis* (Riley et al., 1992).

Um teste baseado em DNA comercialmente disponível chamado Affirm VP system (Becton Dickinson) usa uma sonda de oligonucleótidos sintéticos para a selecção de *T. vaginalis*, *Gardenerella vaginalis*, *Cândida* sp. a partir de uma única amostra vaginal (Petrin et al., 1998). A sensibilidade e especificidade do teste Affirm VP para a *T. vaginalis* foram estabelecidas pela comparação com o exame directo e cultural em 852 mulheres. O Affirm VP apresentou uma sensibilidade de 92% e uma especificidade de 98% comparado

com o exame directo e uma sensibilidade de 92% e especificidade de 99% comparado com a cultura (package insert, Affirm VP III, Becton Dickinson) (Petrin et al., 1998).

Recentemente é apresentado um estudo (Brown et al, 2004), que corrobora com o anterior, em 422 mulheres foram detectadas com *T. vaginalis* positivas apenas 23 (5%) por exame directo e 30 (7%) pelo Affirm VP III.

O advento de técnicas de reacção em cadeia de polimerase (PCR) tornou-se uma nova alternativa de diagnóstico. Apesar de apresentarem sensibilidades muito próxima dos 100% estão actualmente restritas a locais de investigação devido à sua complexidade técnica e aos elevados custos (Lehker & Alderet, 2000). Existem diversos estudos que comparam a sensibilidade da técnica de PCR com metodologias mais antigas (Churakov et al., 2005; Radonjic et al., 2006; Lobo et al., 2003) Diversas opiniões são apresentadas sobre a utilização da técnica de PCR, sua sensibilidade e especificidade. Churakov e seus colaboradores através de um estudo publicado em 2005 afirmam que os testes de cultura (19,0%) e a PCR (17,1) apresentam resultados muito similares no seu estudo no diagnóstico da *T. vaginalis*. A validar o referido anteriormente (Radonjic et al., 2006) compara diversos métodos (exame directo, Giemsa, laranja de acridina, cultura e PCR) no diagnóstico da *T. vaginalis*. Mais uma vez a sensibilidade e a especificidade da PCR (81,0% e 97,2%) não excedem o método cultural. Quer o PCR quer a cultura são altamente sensíveis, devendo ser usados para confirmar casos negativos.

Relativamente à PCR diversos primers já foram descritos e testados utilizando amostras vaginais colhidas por zaragatoa. A sua sensibilidade pode oscilar entre 85% e 100% (Paterson et al., 1998; Ryu et al., 1999).

Ao contrário do que acontece no diagnóstico da *Chlamydia* e da *Neisseria gonorrhoeae* em que a PCR parece ter uma maior sensibilidade que a cultura, na tricomoniose a PCR não parece oferecer vantagem no diagnóstico relativamente à cultura em mulheres. Possivelmente isto acontece porque a *T. vaginalis* é menos fastidiosa de cultivar que a *Chlamydia* e a *Neisseria gonorrhoeae*. Pensa-se que a PCR pode ser superior à cultura no diagnóstico de *T. vaginalis* em homens (Schwebke & Burgess, 2004).

Diversos estudos estão em desenvolvimento relativamente à técnica de PCR no diagnóstico da *T. vaginalis*, talvez futuramente sejam desenvolvidos primers novos que poderão melhorar a sensibilidade da técnica.

## Epidemiologia

A tricomoniose é a DSTs não viral mais comum em todo o mundo, com uma incidência anual estimada em 7,4 milhões nos Estados Unidos e superior a 180 milhões de casos a nível mundial (Weinstock et al., 2004).

A organização mundial de saúde estimou que esta infecção explica quase 50% de todas as DSTs com cura em todo o mundo (Cates et al., 1999).

Miller e seus colaboradores em 2005 forneceram uma estimativa da prevalência da tricomoniose na população em geral nos Estados Unidos. Recorrendo a uma das metodologias de maior sensibilidade no diagnóstico da tricomoniose (PCR) determinaram a prevalência de 2,3 % de *T. vaginalis* numa amostra de 12449 adolescentes neste país. Van Der Pol e seus colaboradores (2005), também nos Estados Unidos e em mulheres adolescentes numa população com um nível sócio económico baixo e médio detectou uma prevalência de 6% utilizando PCR.

Numa das zonas rurais do noroeste da China de entre 480 mulheres em idades de procriar foi determinada uma prevalência de 12,9% de infecção por *T. vaginalis* (Zhang et al., 2005). Em Cuba a prevalência em jovens adolescentes com comportamentos de risco era de 13,2% (Rivero et al., 2004). No Brasil em 2003 é publicado um estudo onde a taxa de prevalência em mulheres assintomáticas era de 2,3% recorrendo ao exame directo e ao papanicolau (Andrea & Ansell, 2003). Na Austrália numa população heterogénea recorrendo à metodologia de PCR é determinada uma taxa de 24% de infecção por *T. vaginalis* (Smith et al., 2005). Sakru e seus colaboradores em 2005 recorrendo ao exame directo e à cultura determinaram uma prevalência de 8,6% de casos positivos numa população heterogénea na Turquia. Na Nigéria em 210 homens e mulheres com história de DSTs foi detectada uma prevalência de *T. vaginalis* de 1,9% (Kehinde & Lawoyin, 2005). Mahdi e seus colaboradores (2001) em 352 mulheres com corrimento vaginal detectaram uma prevalência de tricomoniose de 13% no Iraque. Na Europa, países como Espanha apresentam baixas taxas de prevalência na população heterogénea apresentando apenas 1,2% de infecção por *T. vaginalis* (Barrio, 2002). Em Londres Adu-Sarkodie e seus colaboradores (2004) determinaram uma prevalência de 5,4% em mulheres que frequentavam consultas de planeamento familiar. Já em Portugal o único estudo encontrado apresenta taxas de 31,2% mas numa população considerada de risco (reclusas com comportamentos sexuais de risco e outras DSTs), (Garcia et al., 2004), não existindo nenhuma investigação acerca da prevalência desta infecção na população

heterogénea. Assim é importante a realização de estudos na população em geral para existir uma ideia acerca da prevalência desta parasitose em Portugal.

Apesar da infinidade de estudos que são realizados acerca da prevalência desta infecção, tanto em mulheres como em homens, praticamente todos utilizam populações muito dispersas e com sintomatologia ou outras DSTs. Desta forma ao fazer uma revisão epidemiológica desta parasitose a nível mundial é encontrada uma grande amplitude na prevalência. Alguns estudos podem ser agrupados, outros não seguem nenhum padrão específico sendo assim muito difícil retirar elações acerca da comparação das prevalências nos diferentes países.

As populações estudadas incluem mulheres grávidas, mulheres com infecção por HIV, reclusas, adolescentes com comportamentos de risco, prostitutas, sintomáticas, assintomáticas, grupos heterogénios, mulheres de raça negra, entre outras. Alguns estudos efectuados em diferentes países demonstram que mulheres sintomáticas, com HIV, e com comportamentos sexuais de risco de um modo geral apresentam taxas de infecção mais elevadas relativamente à população em geral (Chen et al., 2005; Kissinger et al., 2005; Garcia et al., 2004; Magnus et al., 2003; Anorlu et al., 2001).

Crosby e seus colaboradores demonstraram que o uso de drogas está relacionado com um aumento da prevalência da tricomoniose. Os consumidores de marijuana apresentavam uma probabilidade seis vezes maior de ter *T. vaginalis* que os não consumidores. Um estudo publicado recentemente (2005) por Plitt contraria o anterior demonstrando que apesar dos riscos sexuais elevados entre consumidores de drogas injectáveis a prevalência da tricomoniose neste grupo populacional é semelhante à população em geral.

Outros trabalhos evidenciam que a prevalência aumenta com a idade, varia com a região estudada bem como com a raça. As mulheres de raça negra e os homens americanos nativos apresentam maior taxa de prevalência (Miller et al., 2005; Magnus et al., 2003; Crosby et al., 2002).

Também as mulheres grávidas parecem ter maior prevalência relativamente à população em geral (Amindavaa et al., 2005). Pensa-se que esse aumento possa ser devido à interrupção do uso de contraceptivos, aumento na frequência de relações sexuais e mudanças hormonais que ocorrem na gravidez (Brown, 1972).

As taxas de infecção por *T. vaginalis* nos homens são desconhecidas, essencialmente devido à baixa sensibilidade dos métodos de diagnóstico usados. Estudos recentes onde foram usadas técnicas de Polimerase Chain Reaccion (PCR) encontraram taxas de

infecção de *T. vaginalis* semelhantes às de infecção por *Chlamydia* (Schwebke & Hook, 2003).

Tendo em conta que a prevalência depende de vários factores como a idade, actividade sexual, número de parceiros sexuais, outras DSTs, fase do ciclo menstrual, método de diagnóstico, condições sócio-económicas, uso de contracepção, raça, tipo de amostra entre outros (Petrin et al., 1998), torna-se difícil estabelecer comparação de prevalências entre os diferentes estudos publicados.

### **Tratamento de *T. vaginalis***

Para além do aumento da prevalência desta infecção e do uso de meios de diagnóstico com baixa sensibilidade outro problema é colocado relativamente ao tratamento desta parasitose devido à resistência aos fármacos utilizados (metronidazol) e ao incumprimento da terapêutica prescrita (Soper, 2004)

#### **Tratamento com metronidazol, passado e presente**

Embora o índice de cura do metranidazol seja excelente, frequentemente ocorrem falhas no tratamento devido à reinfeção ou à não adesão à terapia (Maciel et al., 2004). Em 1989 o CDC (Center for Diseases Control) detectam uma resistência de 5% dos isolados de *T. vaginalis* obtidos, que dá uma média de 30.000 casos ao ano que não podem ser tratados com metronidazol (Lossick, 1989). Os casos de resistência ao metronidazol tornam-se problemáticos devido ao recurso a elevadas concentrações de fármacos e consequente risco de toxicidade (Petrin et al., 1998) e possível carcinogenicidade (Gerbase et al., 1998).

Durante algum tempo antes do aparecimento dos nitroimidazóis a tricomoniose era tratada com compostos cuja função consistia em diminuir o pH vaginal e como consequência a quantidade de parasitas; no entanto a taxa de sucesso destes compostos era de 22% a 40% (Trussel et al., 1947). Utilizando esta terapêutica, mesmo que as mulheres fossem tratadas com sucesso, não havia nenhum tratamento para os parceiros masculinos, e assim, a reinfeção podia voltar a ocorrer rapidamente (Lossick & Kent, 1991).

O metronidazol foi descoberto na década dos anos 50, quando investigadores dos Laboratórios Rhône – Poulenc (França) observaram que um derivado semi – sintético 2-nitroimidazol (azomicina) proveniente da streptomina descoberta no Japão, tinha

actividade contra a *T. vaginalis*, sendo este o ponto de partida para a investigação de fármacos com actividade contra protozoários anaeróbios (Maeda et al., 1953; Freeman et al., 1997).

Em 1959 Cosar e Julou mostraram a utilidade do metronidazol ( $\alpha$ -hydroxyethyl-2-methyl-5-nitroimidazole) no tratamento das tricomonioses humanas, sendo este fármaco introduzido na clínica no ano seguinte, e comercializado com o nome de Flagyl (Durel et al., 1960).

Apesar da grande variedade de nitroimidazóis, o metronidazol é o mais utilizado no tratamento standard nas infecções por *T. vaginalis*. Nos Estados Unidos este antiparasitário é o único 5-nitroimidazol usado na terapia eficaz da *T. vaginalis* (Schwebke & Burgess, 2004).

O Metronidazole ( $\alpha$ -hydroxyethyl-2-methyl-5-nitroimidazole) é um 5-nitroimidazol, composto heterocíclico com um grupo nitro na quinta posição de um anel do imidazol. É o grupo 5-nitro que, quando reduzido a um radical nitro dentro do parasita (*T. vaginalis*) é responsável pela actividade antiprotozoária (Cosar et al., 1959).

Inicialmente o metronidazol era aplicado em doses de 200mg por via oral três vezes ao dia durante sete dias com um nível de cura superior a 90% e de 100% quando os parceiros sexuais eram tratados (Sobel et al., 1999; Heine & McGregor, 1993).

Posteriormente de forma empírica outros investigadores mostraram que doses únicas de 2 gramas poderiam ter sucesso na cura da infecção por *T. vaginalis* (Morton et al., 1972; Woodcock, 1972). Mais tarde outros autores defendem esta opção terapêutica como sendo a melhor no tratamento da tricomoniase (Thin et al., 1979; Hager et al., 1980). A taxa de cura utilizando dose única vai desde 82% até 88%, chegando mesmo aos 100% em doentes em que se trata o ou os parceiros sexuais. Este tipo de terapêutica aumenta o cumprimento da terapia por parte do doente, sendo muito mais cómoda. (Ralph et al., 1983; Spence et al., 1997; Fleury & Cameron-Go, 1997; CDCP, 1993).

Em 1993 Heine & McGregor demonstraram que as taxas de cura do metronidazol são superiores a 90% tanto recorrendo a uma terapêutica de 200mg durante 7 dias como a dose única de 2gr. Porque a tricomoniase é uma doença sexualmente transmitida, os parceiros sexuais devem ser tratados em simultâneo com os indivíduos infectados; nestes casos a taxa de sucesso deste fármaco atinge os 100%. Em 2002 a Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines recomendava uma única dose de 2 gramas de metronidazol como tratamento eleito, sendo as 500mg duas vezes ao dia durante 7 dias considerado uma alternativa, ocorrendo sempre o tratamento de todos os parceiros



sexuais (MMWR, 2002). De um modo geral a reinfecção é de 6,2% - 23,7% em mulheres cujos parceiros sexuais não foram simultaneamente tratados (Soper, 2004).

No caso da dose única, se por um lado é mais cómoda porque o tratamento é efectuado com uma única toma, pode existir um risco no aumento de efeitos colaterais devido ao facto de a dose administrada ser maior. Para além do referido os pacientes que são tratados durante os 7 dias são protegidos durante este período, contrariamente ao que acontece com a toma da dose única (Lossick, 1990).

Foram testadas outras doses únicas, no entanto nenhuma delas tinha taxa de cura superior às 2gr (Ralph et al., 1983; Austin et al., 1982).

O metronidazol também pode ser administrado por via intravenosa, embora usada raramente está associada a efeitos colaterais mais severos que a administração oral. As taxas de cura entre a administração oral e a intravenosa são muito semelhante (Sobel et al., 1999). O tratamento local intravaginal com 500 mg 1-2 vezes por dia durante 7 dias tem uma taxa de cura muito baixa entre os 30-60% (duBouchet et al., 1998; Tidwell et al., 1994).

O uso de cremes vaginais de 2gr também apresenta uma taxa de cura de apenas 50% (Tidwell et al., 1994).

### **Tratamento em mulheres grávidas**

O uso do metronidazol durante a gravidez tem sido um assunto muito debatido, já que este fármaco tem a capacidade de atravessar a placenta. Além do referido, o metronidazol é mutagénico em bactérias e carcinogénico em ratos, deste modo a teratogenicidade merece todo o interesse de estudo (Lindmark et al., 1976). Isto conduziu a que o metronidazol fosse considerado um fármaco de risco durante a gravidez, sendo contra indicada no primeiro trimestre de gravidez, podendo no entanto ser administrado como dose única oral (2gr) quando existem sintomas graves na fase final da gravidez. Struthers e seus colaboradores em 1997 concluíram que pode ser usado no segundo e terceiro trimestre da gravidez, e utilizar óvulos em mulheres sintomáticas durante o primeiro trimestre. Estudos recentes não estabelecem qualquer relação entre a exposição ao metronidazol durante a gravidez e o aparecimento de alterações no feto. Este facto demonstra que os riscos associados com uma tricomoniase durante a gravidez (nascimento prematuros e bebés de baixo peso) parecem ser maiores que efeitos provocados pela exposição ao metronidazol; assim muitos clínicos passaram a medicar durante a gravidez (Czeizel et al., 1998).

A verdade é que os dados relativamente ao sucesso do tratamento com metronidazol durante a gravidez são limitados. Klebanoff e seus colaboradores realizaram um estudo onde mulheres assintomáticas com tricomoniose tratadas com metronidazol tinham na realidade taxas mais elevadas de partos prematuros (19%) do que as mulheres com tricomoniose assintomáticas que ao longo do estudo foram tratadas com placebo (10,7%). Estes concluíram que o tratamento de mulheres assintomáticas com metronidazol durante a gravidez não é recomendável. Um estudo mais recente demonstra que as mulheres tratadas com metronidazol apresentam taxas elevadas de nascimentos prematuros e bebés de baixo peso (Kigozi et al., 2003).

Actualmente a dose única de metronidazol é o tratamento corrente recomendado pelo Centers for Diseases Control and Prevention para as mulheres grávidas. Alternativamente pode ser usada uma dose de 100mg de clotrimazol durante 6 dias temporariamente durante o primeiro trimestre de gravidez, seguida pela terapia standard de metronidazol no segundo trimestre (Cudmore et al., 2004)

Naturalmente é urgente desenvolver trabalhos com o intuito de perceber os efeitos do metronidazol durante a gravidez.

### **Mulheres em fase de aleitamento**

Relativamente a mulheres que amamentam, sabe-se que o metronidazol é segregado no leite em quantidades muito pequenas. Em mulheres em fase de aleitamento deve ser administrada a dose única (2gr) com uma taxa de sucesso de 82% a 88% e de 96% a 98% se for tratado o parceiro sexual. A mãe não deve amamentar pelo menos durante 24h após a ingestão do metronidazol isto porque ocorre a passagem da droga para o leite materno (cerca de 25mg) (Lossick, 1990).

### **Tricomoniose neonatal**

A tricomoniose neonatal é geralmente assintomática ou suavemente sintomática e dependente dos níveis de estrogénio maternal, que começam a diminuir depois da terceira à sexta semana de vida. Após este tempo, a infecção pode desaparecer. O tratamento de neonatos deve ser adiado da sexta à oitava semana de idade e ministrada apenas se a criança se apresentar sintomática (Lossick et al., 1982).

Nesta situação, deve ser administrado 10-30mg/kg de metronidazol (máximo 1g/dia) cada 8 horas durante 5-8 dias (Lossick, 1990).

### Efeitos colaterais do metronidazol

O metronidazol é geralmente bem tolerado. As reacções adversas mais comuns são: cefaleias, náuseas, vómitos, diarreia, mau estar abdominal, insónia, boca seca, gosto metálico. Estes efeitos são geralmente muito suaves, embora alguns pacientes apresentem reacções severas, sendo necessário parar a terapia com metronidazol. Glossites e estomatites podem ocorrer durante o tratamento, e associam-se com uma super infecção por *Candida albicans* na vagina. Outros efeitos mais sérios, mas também mais raros incluem eosinofilia, leucopenia, palpitações, confusão. Todos estes efeitos geralmente são provisórios e resolvidos com a cessação da terapia (Lossick, 1990). Aquando da terapia com metronidazol não deve ocorrer consumo de álcool (Vázquez et al., 2001).

### Mecanismos de acção dos nitroimidazóis (metronidazol)

O mecanismo de acção dos nitroimidazóis reflete-se numa toxicidade selectiva para os microorganismos anaeróbios ou microaerófilos e para células anóxicas e hipoxias (Thompson, 2003; Goodman & Guildman, 1994).

O metronidazol não é um citocida por si só, isto é, requer ser metabolizado (Heine & McGregor, 1993)

O mecanismo de acção deste composto (metronidazol) realiza-se em quatro fases (Edwards, 1993; Müller, 1993; Robbie & Sweet, 1983):

- ✓ Penetração do fármaco por difusão passiva através da parede celular dos protozoários e activação nos hidrogenossomas;
- ✓ Redução de um grupo nitro pela enzima piruvato-ferredoxina oxirreductase a radicais nitro citotóxicos. O grupo nitro actua como um aceitador de electrões provenientes de proteínas para o transporte de electrões como as ferredoxinas no caso da *T. vaginalis*, desviando assim a proteína da sua função que é produzir energia para a célula (Goodman & Gildman, 1994);
- ✓ Estes radicais nitro citotóxicos actuam sobre o DNA do parasita, inibem a síntese e degradam o DNA, sendo maior quanto maior for a quantidade de A+T no DNA, por isso as roturas nas cadeias de DNA são feitas sobretudo na timina, e libertam uma mistura de timina e timidina fosfato. A *T. vaginalis* tem um conteúdo de T+A maior que 70%, por isso a *T. vaginalis* apresenta uma CML à volta de 1ug/ml (Vázquez et

al., 2001). *In vitro*, a resposta da *T. vaginalis* ao metronidazol é rápida. A síntese do DNA é inibida dentro de 30 minutos, e a morte ocorre em 5 horas (Ings et al., 1974);

- ✓ Libertação de produtos finais inactivos.

A grande especificidade do metronidazol face aos microrganismos anaeróbios parece ser devida ao facto de a ferredoxina ou proteínas similares (flavodoxina) actuarem como transportadores electrónicos, e quando se produz uma interacção do grupo nitro do metronidazol com o sistema redox, a ferredoxina é oxidada e o grupo nitroimidazol é reduzido. Esta redução faz decrescer a concentração intracelular na sua forma oxidada e permite um aumento da captação do fármaco pela célula (Ings et al., 1974).

### **Papel dos hidrogenossomas**

As *Trichomonas vaginalis* são parasitas eucariotas unicelulares que não possuem mitocôndrias, no entanto apresentam estruturas especiais denominadas hidrogenossomas. Foram descobertos por Lindmark e Muller em 1973 e denominados assim pelo facto de no seu interior se encontrarem as enzimas responsáveis pela formação de hidrogénio molecular.

Estes organelos estão unidos à membrana e apresentam, funções inusuais:

- 1- Em anaerobiose produzem hidrogénio molecular por oxidação do piruvato a malato (Müller, 1993; Lindmark et al., 1975). São assim produzidas quantidades equimoleculares de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> e de acetato pela ferrosulfoproteína denominada piruvatoferredoxinoxidoreductase (PFO), com formação de ATP.
- 2- Em aerobiose não se forma hidrogénio e consome-se oxigénio que é rapidamente inactivado o que indica toxicidade para estes organelos. (Lindmark et al., 1975). *In vivo* o papel dos hidrogenossomas é participar no metabolismo geral da célula, e representa uma vantagem selectiva para viver em locais com pouco oxigénio (Lindmark et al., 1975).

A importância dos hidrogenossomas no modo de acção dos fármacos tem a ver com o facto de estes não serem por si só tóxicos para os parasitas. O fármaco tem que ser nitroreduzido a derivados tóxicos de vida curta. Os electrões que promovem esta redução são originados a partir da oxidação da PFO e são transferidos via ferredoxina ao grupo nitro do fármaco (Muller, 1993).

### ***Mecanismos de Resistência ao metronidazol***

Embora o índice de cura seja excelente frequentemente ocorrem falhas no tratamento que se devem a factores extrínsecos ou intrínsecos. Diversos factores extrínsecos são apontados como sendo responsáveis por situações de falha de tratamento com o metronidazol. Inicialmente uma das principais causas era a reinfecção e a não adesão à terapêutica. Outras razões foram propostas como: baixas concentrações de zinco no soro (Wilmott et al., 1983; Schott & Delves, 1978), baixa absorção do fármaco (Kana et al., 1961), distribuição não efectiva do fármaco na região genital ou inactivação do fármaco por bactérias presentes na flora vaginal das pacientes (Edwards, 1979).

Lumsden e os seus colaboradores em 1988 consideraram estes mecanismos de resistência extrínsecos ao parasita como pouco prováveis, sugerindo que a resistência poderia ser intrínseca ao parasita.

Durante longos períodos foram elaborados numerosos trabalhos acerca destes fenómenos extrínsecos, no entanto conclui-se que mesmo eliminando estes factores extrínsecos continuavam a existir casos de resistência ao metronidazol. Este facto levou a constatar que a resistência pode ser um fenómeno dependente do parasita (Narcisi & Secor, 1996).

Alguns estudos têm vindo a demonstrar que existem vários factores que podem afectar o mecanismo de acção dos 5-nitroimidazóis. Durante algum tempo pensou-se que um deles era a presença de oxigénio, este quando se mantinha a uma determinada pressão parcial, actuava como destoxicante, reoxidando o grupo nitro para regenerar o composto inicial, o que retardaria a entrada para o interior da célula de mais fármaco (Perez-Rayes et al., 1980) No entanto, o efeito inibitório do oxigénio é menor que o esperado, isto porque as hidrogenases citosólicas funcionam como sequestradoras de oxigénio, assegurando um ambiente mais reduzido de oxigénio nos hidrogenossomas. Um outro factor é a enzima PFO apresentar actividade reduzida. Em parasitas altamente resistentes ao metronidazol não existe a enzima PFO (Kulda et al., 1982). Pode também ser devido a alterações nos hidrogenossomas (Townson et al., 1994), ferredoxina com potencial redox excepcional (Yarlett et al., 1985) e uma quantidade diminuída de ferredoxina intracelular (Meri et al., 2000)

### ***Epidemiologia da resistência ao metronidazol***

Depois da primeira resistência descrita por Robinson em 1962, dois anos depois de ser introduzido na clínica novos casos de resistência ao metronidazol têm ocorrido. Ao longo dos tempos têm sido registados diferentes níveis de resistência e em diferentes países: EUA, Canada, Reino Unido, Alemanha, sérvia, África (Hager, 2004; Vukicevic & Jankicevic, 2003; Kellock & O'Mahoney, 1996; Weihe et al., 1988; Muller et al., 1988; Lossick et al., 1986).

Sobel e seus colaboradores em 1999, através de um estudo realizado em Filadélfia (EUA) demonstraram que de 1985 até 1991 era apenas diagnosticado um caso de resistência ao metronidazol, no entanto é verificado um aumento bastante significativo em 1997. De 1997 a 1998 foram diagnosticados 17 casos de resistência ao metronidazol.

Shmid e seus colaboradores em 2001 também nos EUA detectaram 82 casos positivos para a *T. vaginalis* em 911 mulheres. Dos 82 casos apenas 2 apresentaram uma resistência de baixo nível ao metronidazol com uma CML de 50ug/ml. O estudo *in vitro* demonstrou uma resistência de 5%, sugerindo que há efectivamente alguns casos de resistência mas de baixo nível, sendo os de nível elevado incomuns.

Em 2003 Vukicevic e Jankicevic relataram a quantidade de casos de resistência ao metronidazol durante o período (1999-2001) em 612 pacientes com suspeita de DST em Belgrado (Sérvia). Dos 216 casos positivos para *T. vaginalis* três casos não foram curados mesmo recorrendo às três fases de tratamento impostas pela CDC. Tratava-se de uma resistência de baixo nível já que a cura foi obtida recorrendo a 3 doses dia de metronidazol durante dois dias. Estes autores concluíram ainda que a resistência ao metronidazol é mais elevada em doentes com polinfecção do que em aqueles que apresentam monoinfecção.

Um outro estudo publicado recentemente (2005) em Birmingham (EUA) demonstra uma prevalência de 1,7% de casos não respondedores às doses standards de metronidazol entre 1999 e 2002. Esta taxa de não respondedores aumenta de 0,38% em 1999 para 3,5% em 2002 (Das et al., 2005).

Foi efectuada uma revisão retrospectiva de casos de resistência clínica ao metronidazol entre 1994 e 2002 em Inglaterra a partir da qual foram obtidos 11 casos de *T. vaginalis* metronidazol resistentes (Mammen-Tobin & Wilson, 2005).

Pérez e seus colaboradores em 2001 detectaram 2,2% de resistência ao metronidazol em isolados provenientes de prostitutas e mulheres com problemas ginecológicos em Oviedo (Espanha).

Apesar de não existir um sistema de registo para se poder ter noção da localização dos isolados metronidazol resistentes a CDC calcula que 2,5% a 5% de isolados de *T. vaginalis* apresentam algum nível de resistência ao metronidazol (Schmid et al., 2001). A verdade é que o tratamento com o metronidazol não cura todos os pacientes, e o reconhecimento da resistência está a aumentar. Os pedidos efectuados aos centros de controlo de doenças e prevenção (CDC) para avaliação das resistências ao metronidazol em isolados clínicos aumentaram de 15 em 1995 para 100 em 2003 (Crowell et al., 2004). Além disso, os efeitos adversos do metronidazol como já foi referido anteriormente podem ser bastante graves, impossibilitando em certas situações o uso do metronidazol.

Embora não seja um problema alarmante poderá vir a ser preocupante porque todos os fármacos de que dispomos actualmente para a cura da *T. vaginalis* são derivados dos 5-nitroimidazol, isto significa que apresentam o mesmo mecanismo de acção, como tal, este problema deveria ser vigiado e estudado (Kulda, 1999).

### ***Estudos in vitro (metronidazol)***

Tem sido constatado ao longo dos tempos que as resistências clínicas se traduzem muitas vezes em resistências *in vitro*. A realização destes ensaios *in vitro* apresenta uma enorme diversidade de metodologias. Esta ausência de uniformidade de critérios torna difícil retirar conclusões acerca dos casos metronidazol resistentes *in vitro* (Lumsdem et al., 1988).

As metodologias variam relativamente ao meio usado (TYM, Inpouch TV), diluições e concentrações usadas, tipo de leitura (câmara newbauer, microscópio invertido, leitores de microplacas ELISA), tempo de exposição ao farmaco (24 h, 48 h, 72 h, 5 dias, 10 dias), sensibilidade aeróbia ou anaeróbia, critérios de avaliação dos conceitos CML, CMI, IC<sub>50</sub>.

Embora a tendência seja aperfeiçoar estas metodologias a verdade é que além da não uniformidade de critérios estas aduzem outros problemas: o inóculo não é bem definido nem standardizado, volume do meio de cultivo, atmosfera de incubação, meios de ensaio. Tudo isto demonstra limitações inerentes a estas metodologias (Lumsdem et al., 1988).

Ao serem analisados os diferentes trabalhos coloca-se muitas vezes uma questão de interpretação dos termos CML e CMI. Alguns autores definem CML como a mais baixa

concentração de metronidazol onde não há células móveis ao fim de 48 h de cultivo (Crowell et al., 2004; Sobel et al., 2001 Snipes et al., 2000).

Em outros estudos a CML é a mais baixa concentração na qual é inibido o crescimento mas em meio livre de fármaco (Rasoloson et al., 2002; Meri., et al 2000; Borchardt et al., 1996; Kulda et al., 1982; Heyworth et al., 1980) Quanto à CMI alguns autores definem-na como a mais baixa concentração de fármaco na qual tem lugar o crescimento celular. Outros autores apresentam a CMI como a concentração mais baixa de droga onde se verifica a não motilidade dos organismos (Meri et al., 2000; Chavalitsheewinkoon-Petmitr et al., 2003). Outro aspecto conflituoso é estabelecer a partir de que valor um isolado é considerado resistente *in vitro*. Em 1991 Lossick & Kent estimaram que a resistência elevada ao metronidazol (MLC>400µg/ml) ocorre 1 em 2000-3000 casos de tricomoniase. Alguns autores sugerem que um isolado deve ser considerado resistente se a CML for superior a 100µg/ml em aerobiose e 3,1 µg/ml em anaerobiose (Muller et al., 1988). Mais recentemente foi proposto que poderia ser considerado resistente se >75µg/ml em aerobiose mas com leitura ao fim de 24h e >15ug/ml em anaerobiose e leitura às 48h (Meri et al., 2000).

Existem 2 tipos de resistência distintos como já foi referido anteriormente, a resistência aeróbia e a anaeróbia.

### **Resistência aeróbia**

Ao longo dos tempos foi demonstrado que as resistências aeróbias são 2-40 vezes maiores que em anaerobiose, por sua vez as resistências aeróbias correlacionam-se melhor com o grau de resistência clínica ao metronidazol. (Meri et al., 2000).

Esta só se manifesta na presença de oxigénio, pensa-se que aparece com um aumento na concentração de oxigénio intracelular e reoxidação dos radicais livres nitro; ou eliminação competitiva de electrões pelo oxigénio. Estes organismos são susceptíveis ao metronidazol em condições de anaerobiose, nestas condições são mantidas as funções dos hidrogenossomas responsáveis pela activação do fármaco. Tudo isto tem implicações práticas, já que os ensaios devem ser realizados em baixas condições de aerobiose. Valores de CML> 50 µg/ml dão uma boa indicação de resistência clínica, no entanto estes valores são determinados em condições de oxigénio diferentes de aquelas que ocorrem na infecção propriamente dita. Por este motivo os níveis *in vitro* são altos e pouco realistas das concentrações que o fármaco alcança no sangue e que são necessárias para alcançar a infecção (Krajden et al., 1986).



## Alternativas à terapêutica em isolados metronidazol resistentes

Quando o metronidazol é o único fármaco usado legalmente na cura da tricomoniose como nos Estados Unidos da América, são aplicadas doses mais elevadas oralmente (dobro da dose) por períodos mais prolongados. O problema é que a terapia prolongada é eficaz em aproximadamente 80 % destes pacientes. Actualmente existe um protocolo de tratamento disponível que recomenda níveis marginais, mais baixos, moderados e elevados aos casos metronidazol- resistentes (Ahmed-Jushuf et al., 1988).

### Tinidazole

O tinidazol é utilizado em doses de 4 comprimidos de 500mg (Botero et al., 1983). Diferencia-se do metronidazol devido à sua maior solubilidade lipídica deste modo penetra mais no Líquido cefalorraquidiano (LCR). É um rápido inibidor do DNA e tem maior actividade *in vitro* talvez porque a sua difusão dentro da célula é mais rápida. Tem uma semi-vida mais longa que o metronidazol e é eliminado numa taxa significativamente mais baixa. Está disponível à cerca de 30 anos, no entanto não é usado nos Estados Unidos. Penetra melhor nos tecidos reprodutores masculinos do que o metronidazol (Mattila et al., 1983).

Vasquez e seus colaboradores (2001) defendem que o Tinidazol clinicamente têm a mesma actividade que o metronidazol frente à *T. vaginalis*.

Vários registos literários, incluindo alguns dos Estados Unidos, descrevem o uso bem sucedido do Tinidazol no tratamento da tricomoniose resistente ao metronidazol (Nanda et al., 2006; Mammen-Tobin & Wilson, 2005; Sobel et al., 2001)

Sobel (2001), registou o uso bem sucedido de doses elevadas de tindazol em 24 mulheres com tricomoniose vaginal resistentes ao metronidazol. O tinidazol foi extremamente bem tolerado com estas doses elevadas.

Outros estudos demonstraram a baixa incidência e gravidade dos efeitos secundários após a terapia do tinidazol comparado com o metronidazol (Narcisi & Secor, 1996; Lossick, 1990). O tinidazol está actualmente disponível na Europa, Ásia e grande parte dos países da América Latina. Em certos isolados apresenta CML mais baixas que o metronidazol, este facto muitas vezes reflecte-se clinicamente isto porque as doses aplicadas surtem efeito e são menores que a do metronidazol.

### **Ornidazole**

É administrado oralmente sob a forma de 4 comprimidos de 500 mg numa só dose na infecção aguda ou 2 comprimidos diários durante 5 dias em situações de cronicidade. Tal como o tinidazol apresenta uma semi-vida mais longa e uma taxa de eliminação mais baixa que o metronidazol. Os estudos comparativos do metronidazol com os outros nitroimidazóis mostraram que a sua eficácia apresenta doses muito similares entre eles (Botero & Restrepo, 1992).

### **Outros agentes terapêuticos**

#### **Cotrimoxazol**

É tricomonicida *in vitro* depois de 48 horas com 100mg/ml (Waitz et al., 1971). Usa-se sob a forma de tabletes de 100mg diárias durante 7 dias com taxas de cura entre 48%- 66% (Schnell, 1974). O principal papel deste fármaco é ser usado no primeiro trimestre de gravidez quando não é possível usar o metronidazol (Vásquez et al., 2001).

#### **Furazolidona**

A experiência de uso deste fármaco é curta, este é dado em forma de 100mg em 5gr de creme intravaginal (Vásquez et al., 2001).

#### **Paromomicina**

São usadas cápsulas de sulfato de paromomicina que se aplicam à noite durante 2 semanas (Nyirjesy et al., 1998).

A aplicação intravaginal foi usada com sucesso para tratar a tricomoniase recorrente. Entretanto, os principais problemas são as reacções adversas em forma de úlceras vaginais que fazem da paramomicina um candidato improvável para a terapia clínica (Poppe, 2001).

### Sais de Zinco

Pela primeira vez Gombosovó e seus colaboradores (1986) detectaram morte da *T. vaginalis* por sais de zinco em concentrações fisiológicas. Vásquez e seus colaboradores (2001) sugerem que o zinco presente no sémen pode ser importante na resolução espontânea das uretrites provocadas pela *T. vaginalis*.

### Espermicidas

Um estudo onde era efectuada a comparação entre a utilização de 2 gramas de metronidazol com uma taxa de cura de 93,3% e o nonoxinol-9 intravaginal com uma taxa de cura de 15, 4%, parece não ser útil ao tratamento da tricomoniose. O D-propanol pode ser útil como espermicida tópico e tem actividade tricomonicida *in vitro*, no entanto nunca foi usado em ensaios clínicos (Vasquez et al., 2001).

### Vacinas com *Lactobacillus acidophillus* inactivados

Com o aumento dos casos de prevalência bem como dos casos de resistência ao metronidazol, a prevenção da doença com uma vacina seria claramente desejável. Tal como outras doenças sexualmente transmitidas, a infecção com *T. vaginalis* não induz a protecção imune a longo prazo (Adagu et al., 2002).

Já nos anos 60 tinha sido realizada uma tentativa de criar uma vacina para a *T. vaginalis*, no entanto sem êxito. Só nos anos 70 se torna disponível outra vacina com o nome comercial de Solco Trichovac ou Gynatren. Esta foi usada em três mulheres baseada em “lactobacilos mortos que foram isolados de mulheres com tricomoniose. O sucesso segundo alguns autores foi de 84-100%; no entanto outros não obtiveram resultados tão bons; por outro lado descobriram que esta parece não ter um efeito imune específico (Alderete et al., 1988; Bonilla et al 1983).

### Conclusões gerais

Embora ao longo dos tempos a tricomoniose tenha sido considerada mais um incómodo do que um problema de saúde pública, visto não ser grande causadora de sequelas, actualmente esta parasitose tem recebido maior preocupação devido à associação com a

transmissão do HIV, problemas durante a gravidez e infertilidade. Só a partir do século 20 é que esta parasitose tem suscitado algum interesse nos investigadores; muito progressos têm sido feitos no que concerne ao conhecimento da sua morfologia, à melhoria de técnicas de diagnóstico laboratorial, e ao conhecimento de mecanismos de patogenicidade deste parasita.

O diagnóstico laboratorial da tricomoniose é essencial, dado a elevada quantidade de casos assintomáticos e à semelhança da sua sintomatologia com outras DSTs.

Apesar de diversos estudos publicados demonstrarem a elevada taxa de casos assintomáticos, bem como a baixa sensibilidade de exames laboratoriais usados (exame directo) no screening da tricomoniose nada é feito para implementar novas estratégias no controlo desta infecção. O diagnóstico correcto é indispensável para o tratamento apropriado e para a redução da propagação da infecção.

A vigilância é a componente chave em saúde pública para prevenir doenças sexualmente transmissíveis como o caso da tricomoniose, deste modo é necessário implementar formas que permitam fazer o rastreio de todas as mulheres e homens tal como é efectuado para outras infecções.

No que respeita ao tratamento, as resistências ao metronidazol estão a aumentar, havendo mesmo alguns indivíduos em que este antiparasitário não pode ser usado. É urgente o aparecimento de novo tratamento mas fora da família dos nitroimidazóis.

A descoberta de uma vacina eficaz seria uma mais valia no combate desta parasitose principalmente em zonas de elevada prevalência.

Certamente que um diagnóstico laboratorial correcto, o tratamento de casos sintomáticos e assintomáticos, bem como educação pública e programas de prevenção serão uma mais valia na diminuição da infecção.

## Referências

**Ackers J. P.** 1990. Immunologic aspects of human trichomoniasis. In Honigberg BM, editor. *Trichomonads parasites humans*. New York. *Springer-Verlag*. pp.36-52.

**Adagu I. S., Nolder D., Warhurst D. C., Rossignol J. F.** 2002. In vitro activity of nitazoxanide and related compounds against isolates of *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* and *Trichomonas vaginalis*. *J Antimicrob Chemother.* **49**(1):103-111.

**Adu-Sarkodie Y., Opoku B. K., Danso K. A., Weiss H. A., Mabey D.** 2004. Comparison of latex agglutination, wet preparation, and culture for the detection of *Trichomonas vaginalis*. *Sex Transm Infect.* **80**(3):201-203.

**Ahmed-Jushuf I. H., Murray A. E., McKeown J.** 1988. Managing trichomonal vaginitis refractory to conventional treatment with metronidazole. *Genitourin Med.* **64**(1):25-29.

**Alderete J. F., Engbring J., Lauriano C. M., O'Brien J. L.** 1998. Only two of the *Trichomonas vaginalis* triplet AP51 adhesins are regulated by iron. *Microb Pathog.* **24**(1):1-16.

**Alderete J. F., Provenzano D., Lehker M. W.** 1995. Iron mediates *Trichomonas vaginalis* resistance to complement lysis. *Microb Pathog.* **19**(2):93-103.

**Alderete J. F. & Garza G. E.** 1985. Specific nature of *Trichomonas vaginalis* parasitism of host cell surfaces. *Infect Immun.* **50**(3):701-708.

**Alderete J. F., O'Brien J. L., Arroyo R., Engbring J. A., Musatovova O., Lopez O., Lauriano C., Nguyen J.** 1995. Cloning and molecular characterization of two genes encoding adhesion preteins involved in *Trichomonas vaginalis* cytoadherence. *Mol Microbiol.* **17**:69-83.

**Alderete J. F. & Pearlman E.** 1984. Pathogenic *Trichomonas vaginalis* cytotoxicity to cell culture monolayers. *Br J Vener Dis.* **60**(2):99-105.

**Alderete J.F.** 1988. Does lactobacilli vaccines for trichomoniasis, Solco-Trichovac, induce antibody reactive with *Trichomonas vaginalis*?. *Genitourin Med.* **64**:118-123.

**Amindavaa O., Kristensen S., Pak C.Y., Khalzan D., Chultemsuren B., Randall A. S., Mikolon A., Lkhamsuren E., Tulgaa K., Chimeddorj B., Natsag U.** 2005. Sexually transmitted infections among pregnant women attending antenatal clinics in Mongolia: potential impact on the Mongolian HIV epidemic. *Int J STD AIDS.* **16**(2):153-157.

**Andrea N. & Ansell J.** 2003. Management of thrombosis in the cancer patient. *J Support Oncol.* **4**: 235

**Anorlu R. I., Fagbenro Beyioku A. F., Fagorala T., Abudu O. O., Galadanci H. S.** 2001. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in patients with vaginal discharge in Lagos, Nigeria. *Niger Postgrad Med J.* **8**(4):183-186.

**Arroyo R., & Alderete J. F.** 1989. *Trichomonas vaginalis* surface proteinase activity is necessary for parasite adherence to epithelial cells. *Infect Immun.* **57**(10):2991-2997.

**Arroyo R., Gonzalez-Robles A., Martinez-Palomo A., Alderete J. F.** 1993. Signalling of *Trichomonas vaginalis* for amoeboid transformation and adhesion synthesis follows cytoadherence. *Mol Microbiol.* **7**(2):299-309.

**Austin T. W., Smith E. A., Darwish R., Ralph E. D., Pattison F. L.** 1982. Metronidazole in a single dose for the treatment of trichomoniasis. Failure of a 1-g single dose. *Br J Vener Dis.* **58**(2):121-123.

**Barrio A. G., Ruiz J. N., Pereira D. M., Gallego E. R., Frenandez E. R., Escaro J. A.** 2002. Biological Variability in Clinical Isolates of *Trichomonas vaginalis*. *Mem inst Oswaldo Cruz.* **97**(6):893-896

**Bonilla-Musoles F., Sánchez-Pens J. M., Pellices A., Guevara F., Ziegler W. J.** 1983. A vaccine against vaginal trichomoniasis in humans. A temporary solution of the problem? *Rev Esp Obstet Ginecol.* **43**:777-789.

**Borchardt K. A., Li Z., Zhang M. Z., Shing H.** 1996. An in vitro metronidazole susceptibility test for trichomoniasis using the InPouch TV test. *Genitourin Med.* **72**:132-135.

**Botero D. & Restrepo M.** 1992. Parasitosis Humana. (2ª ed). Colombia: Medellín.

**Botero D., Restrepo M., Mattila J., Mannisto P. T., Mantyla R., Nykanen S., Lamminsivu U.** 1983. Comparative pharmacokinetics of metronidazole and tinidazole as influenced by administration route. *Antimicrob Agents Chemother.* **23**(5):721-725.

**Brown M. T.** 1972. Trichomoniasis. *Practitioner.* **209**:639-644.

**Brown H. L., Fuller D. D., Jasper L. T., Davis T. E., Wright J. D.** 2004. Clinical evaluation of affirm VPIII in the detection and identification of *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis*, and *Candida* species in vaginitis/vaginosis. *Infect Dis Obstet Gynecol.* **12** (1):17-21.

**Cavalier-Smith T.** 1987. The simultaneous symbiotic origin of mitochondria, chloroplasts, and microbodies. *Ann N Y Acad Sci.* **3**:55-71.

**Cates W. J.** 1999. Estimates of the incidence and prevalence of sexually transmitted diseases in the United States. American Social Health Association Panel. *Sex Transm Dis.* **26**(4 Suppl):S2-S7.

**Cavalier-Smith T.** 1987. Eukaryotes with no mitochondria, *Nature.* **326**(6111):332-333.

**Centers for diseases Control and Prevention.** 1993. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **42**(RR-14):70-72.

**Chappaz G. & Bertrand P.** 1965. Development of the problem of trichomoniasis in the last 5 years. *Gynaecologia.* **160**(1):17-33.

**Chavalitsheewinkoon-Petmitr P., Ramdja M., Kajorndechakiat S., Ralph R. K., Denny W. A., Wilairat P.** 2003. In vitro susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to AT-specific minor groove binding drugs. *J. Antimicrob Chemother.* **52**(2):287-289.

**Chen X. S., Yin Y. P., Liang G. J., Gong X. D., Li H. S., Poumerol G., Thuy N., Shi M. Q., Yu Y. H.,** 2005. Sexually transmitted infections among female sex workers in Yunnan, China. *AIDS Patient Care STDS.* **19**(12):853-860.

**Churakov A. A., Kulichenko A. N., Suvorov A. P., Glybochko P. V., Kutyrev V. V.** 2005. Comparative assessment of the diagnostic value of the laboratory diagnostic methods for trichomoniasis. *Med Parazitol.* **3**:22-25.

**Consolaro M., Suzuki L., Marques E.** 1999. Estudo da tricomoníase e a sua abordagem no diagnóstico colpocitológico. *Ver. Brás Anal Clin.* 25-28.

**Cosar C. & Julou L.** 1959. The activity of 1-(2-hydroxyethyl)-2-methyl-5-nitroimidazole (R. P. 8823) against experimental *Trichomonas vaginalis* infections. *Ann Inst Pasteur.* **96**(2):238-241.

**Cotch M. F., Pastorek J. G. 2nd, Nugent R. P., Hillier S. L., Gibbs R. S., Martin D. H., Eschenbach D. A., Edelman R., Carey J. C., Regan J. A., Krohn M. A., Klebanoff M. A., Rao A. V., Rhoads G. G.** 1997. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex Transm Dis.* **24**(6):353-360.

**Crosby R., DiClemente R. J., Wingood G. M., Harrington K., Davies S. L., Hook E. W. 3rd, Oh M. K.** 2002. Predictors of infection with *Trichomonas vaginalis*: a prospective study of low income African-American adolescent females. *Sex Transm Infect.* **78**(5):360-364.

**Crowell A. L., Stephens C. E., Kumar A., Boykin D. W., Secor W. E.** 2004. Activities of dicationic compounds against *Trichomonas vaginalis*. *Antimicrob Agents Chemother.* **48**(9):3602-3605.

**Cudmore S. L., Delgaty K. L., Hayward-McClelland S. F., Petrin D. P, Garber G. E.** 2004. Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev.* **17**(4):783-793.

**Czeizel A. E., Rockenbauer M., Olsen J.** 1998. Use of antibiotics during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **81**(1):1-8.

**Dailey D. C., Chang T. H., Alderete J. F.** 1990. Characterization of *Trichomonas vaginalis* haemolysis. *Parasitology.* **101**:171-175.

**Das S., Huengsberg M., Shahmanesh M.** 2005. Treatment failure of vaginal trichomoniasis in clinical practice. *Int J STD AIDS.* **16**(4):284-286.

**De Carli G. A.** 1992. Diagnóstico de Laboratório da tricomoníase urogenital. *Rev Bras Anal Clin.* **24**:47-52.



**De Carli G. A.** 1993. Inpouchtv: um método de cultura para o diagnóstico da tricomoníase urogenital. *Rev Bras Anal Clin.* **25**:35-36.

**De Carli G. A.** 2000. Tricomonas. In: Neves, D.P. Parasitologia humana. São Paulo Ateheneu. pp.101-105.

**De Carli G. A. & Tasca T.** 2001. *Trichomonas vaginalis*. In: De Carli, G.A. Parasitologia clínica: selecção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico das parasitoses humanas. São Paulo. Atheneu. pp. 453-467.

**De Carli G. A.** 2001. Exame de outros espécimes do trato intestinal e sistema urogenital. In: De Carli, G.A. Parasitologia clínica selecção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas.- São Paulo Atheneu. pp. 165-199.

**Demes P., Gombosova A., Valent M., Janoska A., Fabusova H., Petrenko M.** 1988. Differential susceptibility of fresh *Trichomonas vaginalis* isolates to complement in menstrual blood and cervical mucus. *Genitourin Med.* **64**(3):176-179.

**Donné M. A.** 1836. Animacules observes dans les matières purulents et le produit des sécrétions des organes génitaux l'homme et de la femme. *C R Acad Sci.* **3**:385-386.

**Draper D., Donohoe W., Mortimer L., Heine R P.** 1998. Cysteine proteases of *Trichomonas vaginalis* degrade secretory leukocyte protease inhibitor. *J Infect Dis.* **178**(3):815-819.

**duBouchet L., McGregor J. A., Ismail M., McCormack W. M.** 1998. A pilot study of metronidazole vaginal gel versus oral metronidazole for the treatment of *Trichomonas vaginalis* vaginitis. *Sex Transm Dis.* **25**(3):176-179.

**duBouchet L., Spence M. R., Rein M. F., Danzing M. R., McCormack W. M.** 1997. Multicenter comparison of clotrimazole vaginal tablets, oral metronidazole, and vaginal suppositories containing sulfanilamide, aminacrine hydrichloride, and allantoin in the treatment of symptomatic trichomoniasis. *Sex Transm Dis.* **24**:156-160.

- Durel P., Roiron V., Sibouleta A. Borel L. J.** 1960. Systemic treatment of human trichomoniasis with a derivative of nitro-imidazole. *Br J Vener Dis.* **36**:21-26.
- Edwards D. I.** 1979. Mechanism of antimicrobial action of metronidazole. *J Antimicrob Chemother.* **5**(5):499-502.
- Edwards D. I.** 1993. Nitroimidazole drugs-action and resistance mechanisms. Mechanisms of action. *J. Antimicrob Chemother.* **31**:9-20.
- El-Sharkawy I. M., Hamza S. M, el-Sayed M. K.** 2000. Correlation between trichomoniasis vaginalis and female infertility. *J Egypt Soc Parasitol.* **30**(1):287-294.
- El-Shazly A. M., El-Naggar H. M, Soliman M., El-Negeri M., El-Nemr H. E., Handousa A. E., Morsy T. A.** 2001. A study on *Trichomoniasis vaginalis* and female infertility. *J Egypt Soc Parasitol.* **31**(2):545-553.
- Engbring J. A., O'Brien J. L., Alderete J. F.** 1996. *Trichomonas vaginalis* adhesin proteins display molecular mimicry to metabolic enzymes. *Adv Exp Med Biol.* **408**:207-223.
- Fiori P. L., Rappelli P., Rocchigiani A. M., Cappuccinelli P.** 1993. *Trichomonas vaginalis* haemolysis: evidence of functional pores formation on red cell membranes. *FEMS Microbiol Lett.* **109**(1):13-18.
- Fleming A. T. & Wesserheit J. N.** 1999. From epidemiological synergy to public health policy e practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex Transm Inf.* **75**:3-17.
- Fleury J. & Cameron-Go K.** 1997. Women's rehabilitation and recovery, *Crit Care Nurs Clin North Am.* **9**(4):577-587.
- Foust A. C. & Kraus S. J.** 1980. *Trichomonas vaginalis*, reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J Infect Dis.* **141**:137-143.

**Freeman C. D., Klutman N. E., Lamp K. C.** 1997. Metronidazole. A therapeutic review and update. *Drugs*. **54**(5):679-708.

**Fripp P. J., Mason P. R., Super H.** 1975. A method for the diagnosis of *Trichomonas vaginalis* using acridine orange. *J Parasitol*. **61**(5):966-967.

**Garber G. E., Lemchuk-Favel L. T., Bowie W. R.** 1989. Isolation of a cell-detaching factor of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol*. **27**(7):1548-1553.

**Garber G. E., Lemchuk-Favel L. T., Rousseau G.** 1991. Effect of beta-estradiol on production of the cell-detaching factor of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol*. **29**(9):1847-1849.

**Garber G. E. & Lemchuk-Favel L. T.** 1990. Association of production of cell-detaching factor with the clinical presentation of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol*. **28**(11): 2415-2417.

**Garcia A. F., Chang T. H., Benchimol M., Klumpp D. J., Lehker M. W., Alderete J. F.** 2003. Iron and contact with host cells induce expression of adhesins on surface of *Trichomonas vaginalis*. *Mol Microbiol*. **47**(5):1207-1224.

**Garcia A., Exposto F., Prieto E., Lopes M., Duarte A., da Silva R. C.** 2004. Association of *Trichomonas vaginalis* with sociodemographic factors and other STDs among female inmates in Lisbon. *Int J STD AIDS*. **15**(9):615-618.

**Gerbase A. C., Rowley J. T., Heymann D. H., Berkley S. F., Piot P.** 1998. Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs. *Sex Transm Infect*. **74** (Suppl 1):S12-S16.

**Gold D. & Ofek I.** 1992. Adhesion of *Trichomonas vaginalis* to plastic surfaces: requirement for energy and serum constituents. *Parasitology*. **105**(Pt 1):55-62.

**Gombosova A., Demes P. Valent M.** 1986. Immunotherapeutic effect of the lactobacillus vaccine, Solco Trichovac, in trichomoniasis is not mediated by antibodies cross reacting with *Trichomonas vaginalis*. *Genitourin Med*. **62**(2):107-110.

**Goodman, L. S. & Gildman. A.** 1994. Las Bases Farmacológicas de la therapeutic. (3ª ed.). Ciudad de La Habana: Ed Revolucionaria.

**Gram I. T., Macaluso M., Churchill J., Stalsberg H.** 2005. *Trichomonas vaginalis* (TV) and human papillomavirus (HPV) infection and the incidence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grade III. *Sex Transm Dis.* **4**:227-230.

**Graves A. & Gardner W. A.** 1993. Pathogenicity of *Trichomonas vaginalis*. *Jr. Clin Obstet Gynecol.* **36**(1):145-152.

**Grodstein F., Goldman M. B., Cramer D. W.** 1993. Relation of tubal infertility to history of sexually transmitted diseases. *Am J Epidemiol.* **137**(5):577-584.

**Guenthner P. C., Secor W. E., Dezzutti C. S.** 2005. *Trichomonas vaginalis*-induced epithelial monolayer disruption and human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) replication: implications for the sexual transmission of HIV-1. *Infect Immun.* **73**(7):4155-4160.

**Gunderson J., Hinkle G., Leipe D., Morrison H. G., Stickel S. K., Odelson D. A., Breznak J. A., Nerad T. A., Muller M., Sogin M.** 1995. Phylogeny of trichomonads inferred from small-subunit rRNA sequences. *Eukaryot Microbiol.* **42**(4): 411-415.

**Hager W. D.** 2004. Treatment of metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis* with tinidazole: case reports of three patients. *Sex Transm Dis.* **6**:343-345.

**Hager W. D., Brown S. T., Kraus S. J., Kleris G. S., Perkins G. J., Henderson M.** 1980. Metronidazole for vaginal trichomoniasis. Seven-day vs single-dose regimens. *JAMA.* **244**(11):121.

**Han Q., Liu J., Wang T., Xiao H., Fang Z.** 2004. Influence of the metabolite produced by *Trichomonas Vaginalis* on human sperm motility in vitro. *Zhonghua Nan Ke Xue.* **10**(4):272-274.

- Heath J. P.** 1981. Behaviour and pathogenicity of *Trichomonas vaginalis* in epithelial cell cultures: a study by light and scanning electron microscopy. *Br J Vener Dis.* **57**(2):106-117.
- Heine P. & McGregor J. A.** 1993. *Trichomonas vaginalis*: a reemerging pathogen. *Clin Obstet Gynecol.* **36**(1):137-144.
- Heine P. & McGregor J. A.** 1997. Women's rehabilitation and recovery. *Crit Care Nurs Clin North Am.* **9**(4):577-587
- Heyworth R., Simpson D., McNeillage G. J., Robertson D. H., Young H.** 1980. Isolation of *Trichomonas vaginalis* resistant to metronidazole. *Lancet.* **2**(8192):476-478.
- Hobbs M. M., Kazembe P., Reed A. W., Miller W. C., Nkata E., Zimba D., Daly C. C., Chakraborty H., Cohen M. S., Hoffman I.** 1999. *Trichomonas vaginalis* as a cause of urethritis in Malawian men. *Sex Transm Dis.* **26**(7):381-387.
- Honigberg B. M. & Brugerole G.** 1990. Structure. In: Honigberg B.M., editor *Trichomonads parasitic in humans*. New York. Springer-Verlag. pp. 5-35
- Honigberg B. M. & King V. M.** 1964. Structure of *Trichomonas vaginalis* Dónne. *J Parasitol.* **50**:345-64.
- Huggins G. R. & Preti G.** 1981. Vaginal odors and secretions. *Clin Obstet Gynecol.* **24**(2):355-377.
- Ings R. M., McFadzean J. A., Ormerod W. E.** 1974. The mode of action of metronidazole in *Trichomonas vaginalis* and other micro-organisms. *Biochem Pharmacol.* **23**(9):1421-1429.
- Jaakmees H., Terás J., Roigas E., Nigesen U., Tompel H.** 1966. Complement-fixing antibodies in the blood será of men infested with *Trichomonas vaginalis*. *Wiad parazytol.* **12**:378-384

**Jarecki-Black J. C., Lushbaugh W. B., Golosov L., Glassman A. B.** 1988..*Trichomonas vaginalis*: preliminary characterization of a sperm motility inhibiting factor. *Ann Clin Lab Sci.* **18**:484-489.

**Johnson P. J., d'Oliveira C. E., Gorrell T. E., Muller M.** 1990. Molecular analysis of the hydrogenosomal ferredoxin of the anaerobic protist *Trichomonas vaginalis*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **87**(16):6097-6101.

**Kana P. O., McFadzean J. A., Squires S.** 1961. Absorption and excretion of metronidazole. II. Studies on primary failures. *Br J Vener Dis.* **37**:276-277.

**Kehinde A. O. & Lawoyin T. O.** 2005. STI/HIV co-infections in UCH, Ibadan. Nigeria. *Afr J Reprod Health.* **9**(1):42-48.

**Keith L. G., Friberg J., Fullan N., Bailey R., Berger G. S.** 1986. The possible role of *Trichomonas vaginalis* as a "vector" for the spread of other pathogens. *Int J Fertil.* **31**(4):272-277.

**Kellock D. J. & O'Mahoney C. P.** 1996. Sexually acquired metronidazole-resistant trichomoniasis in a lesbian couple. *Genitourin Med.* **72**:60-61.

**Kerscher L. & Oesterhelt D.** 1982, Ferredoxin oxidoreductase – new findings on an ancient enzyme. *Trends Biochem Sci.* **7**:371-374.

**Kharsany A. B., Hoosen A. A., Moodley J., Bagaratee J., Gouws E.** 1993. The association between sexually transmitted pathogens and cervical intra-epithelial neoplasia in a developing community. *Genitourin Med.* **69** (5):357-360.

**Kigozi G. G., Brahmhatt H., Wabwire-Mangen F., Wawer M. J., Serwadda D., Sewankambo N., Gray R. H.** 2003. Treatment of *Trichomonas* in pregnancy and adverse outcomes of pregnancy: a subanalysis of a randomized trial in Rakai, Uganda. *Am J Obstet Gynecol.* **189**(5):1398-1400.

**Kissinger P. J., Dumestre J., Clark R. A., Wenthold L., Mohammed H., Hagensee M. E., Martin D. H.** 2005, Vaginal swabs versus lavage for detection of *Trichomonas*

*vaginalis* and bacterial vaginosis among HIV-positive women. *Sex Transm Dis.* **32**(4):227-230.

**Kiviat N. B., Peterson M., Kinney-Thomas E., Tam M., Stamm W. E., Holmes K. K.** 1985. Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections. II. Confirmation of *Chlamydia trachomatis* infection by direct immunofluorescence using monoclonal antibodies. *JAMA.* **253**(7):997-1000.

**Klebanoff M. A., Carey J. C., Hauth J. C., Hillier S. L., Nugent R. P., Thom E. A., Ernest J. M., Heine R. P., Wapner R. J., Trout W., Moawad A., Leveno K. J., Miodovnik M., Sibai B. M., Van Dorsten J. P., Dombrowski M. P., O'Sullivan M. J., Varner M., Langer O., McNellis D., Roberts J. M.** 2001. Failure of metronidazole to prevent preterm delivery among pregnant women with asymptomatic *Trichomonas vaginalis* infection. *N Engl J Med.* **345**(7):487-493.

**Krajden S., Lossick J. G., Wilk E., Yang J., Keystone J. S., Elliot K.** 1986. Persistent *Trichomonas vaginalis* infection due to a metronidazole-resistant strain. *CAMJ.* **134**:1373-1374.

**Krieger J. N., Poisson M. A., Rein M. F.** 1983. Beta-hemolytic activity of *Trichomonas vaginalis* correlates with virulence. *Infect Immun.* **41**(3):1291-1295.

**Krieger J. N., Rein M. F.** 1982. Zinc sensitivity of *Trichomonas vaginalis*: in vitro studies and clinical implications. *J Infect Dis.* **146**(3):341-345.

**Krieger J. N., Ravdin J. I., Rein M. F.** 1985. Contact-dependent cytopathogenic mechanisms of *Trichomonas vaginalis*. *Infect Immun.* **50**(3):778-786.

**Krieger J. N., Tam M. R., Stevens C. E., Nielsen I. O., Hale J., Kiviat N. B., Holmes K. K.** 1988. Diagnosis of trichomoniasis. Comparison of conventional wet-mount examination with cytologic studies, cultures, and monoclonal antibody staining of direct specimens. *Related Articles, Links.* **259**(8):1223-1227.

**Kulda J.** 1999. Trichomonads, hydrogenosomes and drug resistance. *Int J Parasitol.* **29**(2):199-212.

**Kulda J., Vojtechovská M., Tachezy J., Demed P, Kunzová E.**1982. Metronidazole resistance of *Trichomonas vaginalis* as a cause of treatment failure in trichomoniasis. *Br J Vener Dis.* **58**:394-399.

**Kulda J., Petrin D., Delgaty K., Bahatt R., Gaber G.** 1990.clinical and microbiological aspects of tricomonas vaginalis. *Clin microbial rev.* **11**:300-317.

**Laga M., Manoka A., Kivuvu M., Malele B., Tuliza M., Nzila N., Goeman J., Behets F., Batter V., Alary M.** 1993. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS.* **7**(1):95-102.

**Lehker M. W. and Alderete J. F.** 2000. Biology of trichomonosis. *Curr Opin Infect Dis.* **13**(1):37-45.

**Lehker M. W., Arroyo R., Alderete J. F.** 1991. The regulation by iron of the synthesis of adhesins and cytoadherence levels in the protozoan *Trichomonas vaginalis*. *J Exp Med.* **174**(2):311-318.

**Leroy V., De Clercq A., Ladner J., Bogaerts J., Van de Perre P., Dabis F.** 1995. Should screening of genital infections be part of antenatal care in areas of high HIV prevalence? A prospective cohort study from Kigali, Rwanda, 1992-1993. The Pregnancy and HIV (EGE) Group. *Genitourin Med.* **71**(4):207-211.

**Levett P. N.** 1980. A comparison of five methods for the detection of *Trichomonas vaginalis* in clinical specimens. *Med Lab Sci.* **37**(1):85-88.

**Levine W. C., Pope V., Bhoomkar A., Tambe P., Lewis J. S., Zaidi A. A., Farshy C. E., Mitchell S., Talkington D. F.** 1998. Increase in endocervical CD4 lymphocytes among women with nonulcerative sexually transmitted diseases. *J Infect Dis.* **177**(1):167-174.

**Lindmark D.G. & Muller M.** 1973. Hydrogenosome, a cytoplasmic organelle of the anaerobic flagellate *Tritrichomonas foetus*, and its role in pyruvate metabolism. *J Biol Chem.* **248**(22):7724-7728.



**Lindmark D. G., Müller M., Shio H.** 1975. Hydrogenosomes in *Trichomonas vaginalis*. *J Parasitol.* **61**:552-554.

**Lindmark D. G. & Muller M.** 1976, Antitrichomonad action, mutagenicity, and reduction of metronidazole and other nitroimidazoles. *Antimicrob Agents Chemother.* **10**(3):476-482.

**Lobo T. T., Feijo G., Carvalho SE., Costa P. L., Chagas C., Xavier J., Simoes-Barbosa A.** 2003. A comparative evaluation of the Papanicolaou test for the diagnosis of trichomoniasis. *Sex Transm Dis.* **30**(9):694-699.

**Lopez L. B., Braga M. B., Lopez J. O., Arroyo R., Costa e Silva Filho F.** 2000. Strategies by which some pathogenic trichomonads integrate diverse signals in the decision-making process. *An Acad Bras Cienc.* **72**(2):173-186.

**Lossick J. G., Muller M., Gorrell T. E.** 1986. In vitro drug susceptibility and doses of metronidazole required for cure in cases of refractory vaginal trichomoniasis. *J Infect Dis.* **153**(5):948-955.

**Lossick. J. G.** 1989. Therapy of urogenital trichomoniasis. In Honigberg B. M. (ed) *Trichomonads parasitic in Humans*. New York. Springer- Verlag. pp.326-341.

**Lossick J. G. & Kent H. L.** 1991. Trichomoniasis: trends in diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol.* **165**:1217-1222.

**Lossick J.G.** 1990. Treatment of sexually transmitted vaginosis/vaginitis. *Rev Infect Dis.* **2** Suppl **6**:S665-S681.

**Lossick J. G., Müller M., Gorrell T.E.** 2000. In vitro drug susceptibility and dose of metronidazole required for cure in cases of refractory vaginal trichomoniasis. *J Infect Dis.* **153**:948-955.

**Lossick J. G., Thompson S. E., Smeltzer M. P.** 1982. Comparison of cefuroxime and penicillin in the treatment of uncomplicated gonorrhea. *Antimicrob Agents Chemother.* **22**(3):409-413.

**Lumsdem W. H. R., Robertson D. H. H., Heyworth R., Harrison C.** 1988. Treatment failure in *Trichomonas vaginalis* vaginitis. *Genitourin Med.* **64**:217-218.

**Maciel P. M., Tasca T., De Carli G.A.** 2004. Clinical aspects, pathogenesis and diagnostic of *Trichomonas vaginalis*. *J Bras Patol Med Lab.* **40**(3):152-160.

**Madico G., Quinn T. C., Rompalo A., McKee K. T. Jr., Gaydos C. A.** 1998. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swab samples. *J Clin Microbiol.* **36**(11):3205-3210.

**Maeda K., Osato T., Umezawa H.** 1953. A new antibiotic, azomycin. *J Antibiot (Tokyo).* **6**(4):182.

**Magnus M., Clark R., Myers L., Farley T., Kissinger P. J.** 2003. *Trichomonas vaginalis* among HIV-Infected women: are immune status or protease inhibitor use associated with subsequent *T. vaginalis* positivity? *Sex Transm Dis.* **30**(11):839-843.

**Mahdi N. K., Gany Z. H., Sharief M.** 2001. Risk factors for vaginal trichomoniasis among women in Basra, Iraq. *East Mediterr Health J.* **7**(6):918-924.

**Mammen-Tobin A. & Wilson J. D.** 2005. Jul. Management of metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*--a new approach. *Int J STD AIDS.* **16**(7):488-490.

**Martinez-Garcia F., Regadera J., Mayer R., Sanchez S. Nistal M.** 1996. Protozoan infections in the male genital tract. *J Urol.* **156**:340-349.

**Mason P. R.** 1979. Serodiagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by the indirect fluorescent antibody test. *J Clin Pathol.* **32**(12):1211-1215.

**Mason P. R., Fiori P. L., Cappuccinelli P., Rappelli P., Gregson S.** 2005. Seroepidemiology of *Trichomonas vaginalis* in rural women in Zimbabwe and patterns of association with HIV infection. *Epidemiol Infect.* **133**(2):315-23.

**Mathews H. M. & Healy G. R.** 1983. Evaluation of two serological tests for *Trichomonas vaginalis* infection. *J Clin Microbiol.* **17**(5):840-843.

**Matilla J., Mannisto P. T., Mantyla R., Nykanen S., Lmmisivu U.** 1983. Comparative Pharmacokinetics of metronidazole and tinidazole as influenced by administration route. *Antimicrob. Agents Chemother.* **23**:721-725

**McGrory T., Meysick K., Lemchuk-Favel L. T., Garber G. E.** 1994. The interaction of *Lactobacillus acidophilus* and *Trichomonas vaginalis* in vitro. *J Parasitol.* **80**(1):50-54.

**Meri T., Jokiranta T. S., Suhonen L., Meri S.** 2000. Resistance of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole: Report of the first three cases from Finland and optimization of in vitro susceptibility testing under various oxygen concentrations. *J Clin Microbiol.* **38**:763-767.

**Miller W. C., Swygard H., Hobbs M. M., Ford C. A., Handcock M. S., Morris M., Schmitz J. L., Cohen M. S., Harris K. M., Udry J. R.** 2005. The prevalence of trichomoniasis in young adults in the United States. *Sex Transm Dis.* **32**(10):593-598.

**Morton R. S.** 1972. Metronidazole in the single-dose treatment of trichomoniasis in men and women. *Br J Vener Dis.* **48**(6):525-527.

**Müller M.** 1992. Energy metabolism of ancestral eukaryotes: a hypothesis based on the biochemistry of amitochondriate parasitic protists. *Biosystems.* **28**(1-3):33-40.

**Müller M.** 1993. Mode of action of metronidazole on anaerobic bacteria and protozoa. *Surgery.* **99**:165-171.

**Müller M., Lossick J. G., Gorrell T. E.** 1988. In vitro susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole and treatment outcome in vaginal trichomoniasis. *Sex Transm Dis.* **15**:17-24.

**Nagesha C. N., Ananthakrishna N. C., Sulochana P.** 1970. Clinical and laboratory studies on vaginal trichomoniasis. *Am J Obstet Gynecol.* **106**(6):933-935.

**Nanda N., Michel R. G., Kurdgelashvili G., Wendel K. A.** 2006. Trichomoniasis and its treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **4**(1):125-135.

**Narcisi E. M. & Secor W. E.** 1996. In vitro effect of tinidazole and furazolidone on metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Antimicrob Agents Chemother.* **40**(5):1121-1125.

**Negm A. Y. & El-Haleem D. A.** 2004. Detection of trichomoniasis in vaginal specimens by both conventional and modern molecular tools. *J Egypt Soc Parasitol.* **34**(2):589-600.

**Nielsen M. H. & Diemer N. H.** 1976. The size, density, and relative area of chromatic granules ("hydrogenosomes") in *Trichomonas vaginalis* Donne from cultures in logarithmic and stationary growth. *Cell Tissue Res.* **167**(4):461-465.

**Nyirjesy P., Sobel J. D., Weitz M. V., Leaman D. J., Gelone S. P.** 1998. Difficult-to-treat trichomoniasis: Results with paromomycin cream. *Clin Infect Dis.* **26**:968-988.

**Ohlemeyer C. L., Hornberger L. L., Lynch D. A., Swierkosz E. M.** 1998. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* in adolescent females: InPouch TV culture versus wet-mount microscopy. *J Adolesc Health.* **22**(3):205-208.

**Paterson B. A., Tabrizi S. N., Garland S. M., Fairley C. K., Bowden F. J.** 1998. The tampon test for trichomoniasis: a comparison between conventional methods and a polymerase chain reaction for *Trichomonas vaginalis* in women. *Sex Transm Infect.* **74**(2):136-139.

**Perez-Reyes E., Kalyanaraman B., Mason R. P.** 1980. The reductive metabolism of metronidazole and ronidazole by aerobic liver microsomes. *Mol Pharmacol.* **17**(2):239-244.

**Pérez S., Fernández-Verdugo A., Pérez F., Vázquez F.** 2001. Prevalence of 5-nitroimidazoles-resistant *Trichomonas vaginalis* in Oviedo (Spain). *Sex Transm Dis.* **28**(2):115-116.

**Petrin D., Delgaty K., Bahatt R., and Gaber G.** 1998. Clinical and microbiological aspects of *Tricomonas vaginalis*. *Clin Microbial Rev.* **11**:300-317.

**Plitt S. S., Garfein R. S., Gaydos C. A., Strathdee S. A., Sherman S. G., Taha T. E.,** 2005. Prevalence and correlates of chlamydia trachomatis, neisseria gonorrhoeae, *Trichomonas vaginalis* infections, and bacterial vaginosis among a cohort of young injection drug users in Baltimore, Maryland. *Sex Transm Dis.* **32**(7):446-453.

**Pindak F. F., Mora de Pindak M., Gardner W. A.** 1993. Contact-independent cytotoxicity of *Trichomonas vaginalis*. *Genitourin Med.* **69**(1):35-40.

**Poppe W. A.** 2001. Nitroimidazole-resistant vaginal trichomoniasis treated with paromomycin. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **96**(1):119-120.

**Price M. A., Zimba D., Hoffman I. F., Kaydos-Daniels S. C., Miller W. C., Martinson F., Chilongozi D., Kip E., Msowoya E., Hobbs M. M., Kazembe P. N., Cohen M. S.** 2003. Addition of treatment for trichomoniasis to syndromic management of urethritis in Malawi: a randomized clinical trial. *Sex Transm Dis.* **30**(6):516-522.

**Radonjic I. V., Dzamic A. M., Mitrovic S. M., Arsic Arsenijevic V. S., Popadic D. M., Kranjcic Zec I. F.** 2006. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **126**(1):116-120.

**Ralph E. D., Darwish R., Austin T. W., Smith E.A. Pattison F. L.** 1983. Susceptibility of *Trichomonas vaginalis* strains to metronidazole: response to treatment. *Sex Transm Dis.* **10**(3):119-122.

**Rasoloson D., Vanacova S., Tomkova E., Razga J., Hrdy I., Tachezy J., Kulda J.** 2002. Mechanisms of in vitro development of resistance to metronidazole in *Trichomonas vaginalis*. *Microbiology.* **148**(Pt 8):2467-2477.

**Rein M. F.** 1995. *Trichomonas vaginalis*. In: Mandell Douglas, Bennet. Principles and practice of infectious diseases. New York. Churchill Livingstone. pp. 2493-2497.

**Rein M. & Muller M.** 1990. *Trichomonas vaginalis* and trichomiasis. In Holmes K.K. editor. Sexually transmitted diseases: New York. McGraw-Hill. pp. 481-489.

- Rendon-Maldonado J., Espinosa-Cantellano M., Soler C., Torres J. V., Martinez-Palomo A.** 2003. *Trichomonas vaginalis*: in vitro attachment and internalization of HIV-1 and HIV-1-infected lymphocytes. *J Eukaryot Microbiol.* **50**(1):43.
- Riley D. E., Roberts M. C., Takayama T., Krieger J. N.** 1992. Development of a polymerase chain reaction-based diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. *J Clin Microbiol.* **30**(2):465-472.
- Rivero L. R., Pena M. R., Perez C. S., Monroy S. P., Sariego Ramos I., Nodarse J. F.** 2002. Frequency of *Trichomonas vaginalis* infection in couples with fertility problems. *Rev Cubana Med Trop.* **54**(2):85-90.
- Rivero L. R., Sariego Ramos I., Perez C. S., Nodarse J. F.** 2004. Behavior “in vitro” of isolations of *Trichomonas vaginalis*, using mice NMRI as experimental model. *Rev Chil Infect.* **21**(2):179-185.
- Robbie M. O. & Sweet R. L.** 1983. Metronidazole use in obstetrics and gynecology: A review. *Am J Obstet Gynecol.* **145**:865-881.
- Robert J.** 1993. Saúde pública, Aids e prostituição NAUD. Doenças sexualmente transmissíveis e Aids. Porto Alegre: *Artes Médicas Sul*: 287-288.
- Robertson D. H. H., Heyworth R., Harrison C., Lumsden W. R. H.** 1988. Treatment failure in *Trichomonas vaginalis* infections in females. I. Concentrations of metronidazole in plasma and vaginal content during normal and high dosage. *J Antimicrob Chemother.* **21**:373-378.
- Robinson S. C.** 1962. *Trichomonal vaginitis* resistant to metronidazole. *Can Med Assoc J.* **86**:665.
- Rosset I., Tasca T., Tessele P. M., De Carli G. A.** 2002. Scanning electron microscopy in the investigation of the in vitro hemolytic activity of *Trichomonas vaginalis*. *Parasitol Res.* **88**(4):356-359.

- Ryu J. S., Chung H. L., Min D. Y., Cho Y. H., Ro Y. S., Kim S. R.** 1999. Diagnosis of trichomoniasis by polymerase chain. *Yonsei Med J.* **40**(1):56-60.
- Sakru N., Toz S. O., Yetkin A. C., Akinci P. Y., Kirca U.** 2005. Increased sensitivity of *Trichomonas vaginalis* isolation from vaginal secretions by subsequent blind passage of preliminary negative cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **52**(1):75-76.
- Sardana V. V., Schlabach A. J., Graham P., Bush B. L., Condra J. H., Culberson J. C., Gotlib L., Graham D. J., Kohl N. E., LaFemina R. L.** 1994. Human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitors: evaluation of resistance engendered by amino acid substitutions in the enzyme's substrate binding site. *Biochemistry.* **33**(8):2004-2010.
- Sayed el-Ahl S. A., el-Wakil H. S., Kamel N. M., Mahmoud M. S.** 2002. A preliminary study on the relationship between *Trichomonas vaginalis* and cervical cancer in Egyptian women. *J Egypt Soc Parasitol.* **32**(1):167-178.
- Schmid G., Narcisi E., Mosure D., Secor W. E., Higgins J., Moreno H.** 2001. Prevalence of metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis* in a gynecology clinic. *J Reprod Med.* **46**(6):545-549.
- Schnell J. D.** 1974. The incidence of vaginal candida and trichomonas infections and treatment of trichomonas vaginitis with clotrimozale. *Postgrad Med J.* **50**:79S-81S.
- Schott G.D. & Delves H. T.** 1978. Plasma zinc levels with anticonvulsant therapy. *Br J Clin Pharmacol.* **5**(3):279-280.
- Schwebke J. R. & Hook E. W.** 2003. High rates of *Trichomonas vaginalis* among men attending a sexually transmitted diseases clinic: implications for screening and urethritis management. *J Infect Dis.* **188**(3):465-468.
- Schwebke J. R. & Burgess D.** 2004. Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev.* **17**(4):794-803.
- Sexually transmitted diseases treatment guidelines.** 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* **51**:44-45.

**Sibau L., Bebb D., Proctor E. M., Bowie W. R.** 1987. Enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of trichomoniasis in women. *Sex Transm Dis.* **14**(4):216-220.

**Smith K. S., Tabrizi S. N., Fethers K. A., Knox J. B., Pearce C., Garland S. M.** 2005. Comparison of conventional testing to polymerase chain reaction in detection of *Trichomonas vaginalis* in indigenous women living in remote areas. *Int J STD AIDS.* **16**(12):811-885.

**Snipes L. J., Gamard P. M., Narcisi E. M., Beard C. B., Lehmann T., Secor W. E.** 2000. Molecular epidemiology of metronidazole resistance in a population of *Trichomonas vaginalis* clinical isolates. *J Clin Microbiol.* **38**(8):3004-3409.

**Sobel J. D.** 1997. Vaginitis. *N Engl J Med.* **337**(26):1896-1903.

**Sobel J. D., Nagappan V., Nyiersjesy P.** 1999. Metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis- an emerging problem. *N Engl J Med.* **341**:292-293.

**Sobel J. D., Nyirjesy P., Brown W.** 2001. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis. *Clin Infect Dis.* **33**(8):1341-1346.

**Soper D.** 2004. Trichomoniasis: under control or undercontrolled. *Am J Obstet Gynecol.* **190**(1):281-290.

**Sorvillo F., Smith L., Kerndt P., Ash L.** 2001. *Trichomonas vaginalis*, HIV, and African-Americans. *Emerg Infect Dis.* **7**(6):927-632.

**Soszka S., Lotocki W., Kuczynska K.** 1973. Coexistence of *T. vaginalis* in the vagina and urinary tract in women. *Wiad Parazytol.* **19**(3):463-467.

**Spence M. R., Harwell T. S., Davies M. C., Smith J. L.** 1997. The minimum single oral metronidazole dose for treating trichomoniasis: a randomized, blinded study. *Obstet Gynecol.* **89**(5 Pt 1):699-703.



**Steinbuchel A. & Muller M.** 1986. Glycerol, a metabolic end product of *Trichomonas vaginalis* and *Tritrichomonas foetus*, *Mol Biochem Parasitol. Srp Arh Celok Lek.* **131**(3-4):156-161.

**Struthers B. J.** 1997. Metronidazole appears not to be a human teratogen: review of the literature. *Infect Dis Obstet Gynecol.* **5**:326-335.

**Sutton M. Y., Sternberg M., Nsuami M., Behets F., Nelson A. M., St Louis M. E.** 1999. Trichomoniasis in pregnant human immunodeficiency virus-infected and human immunodeficiency virus-uninfected congolese women: prevalence, risk factors, and association with low birth weight. *Am J Obstet Gynecol.* **181**(3):656-662.

**Thin R. N. Symonds M. A., Booker R., Cook S., Langlet F.** 1979 Double-blind comparison of a single dose and a five-day course of metronidazole in the treatment of trichomoniasis. *Br J Vener Dis.* **55**(5):354-356.

**Thompson, P. L. M.** 2003. Diccionario Especialidades Farmacéuticas (49 ed.). México

**Tidwell B. H., Lushbaugh W. B., Laughlin M. D., Cleary J. D., Finley R. W.** 1994. A double-blind placebo-controlled trial of single-dose intravaginal versus single-dose oral metronidazole in the treatment of trichomonal vaginitis. *J Infect Dis.* **170**(1):242.

**Townson S. M., Boreham P. F. L., Upcroft P., Upcroft J. A.** 1994. Resistance to the nitroheterocyclic drugs. *Acta Trop.* **56**:173-194.

**Trussell P. C., Fulton C. O., Grant G. A.** 1947. Two Antibiotics produced by a *Streptomyces*. *J Bacteriol.* **53**(6):769-780.

**Van Der Pol B., Williams J. A., Orr D. P., Batteiger B. E., Fortenberry J. D.** 2005. Prevalence, incidence, natural history, and response to treatment of *Trichomonas vaginalis* infection among adolescent women. *J Infect Dis.* **192**(12):2039-2044.

**Vázquez, F., García, M. J., Pérez, F & Palacio, V.** 2001. *Trichomonas vaginalis*: tratamiento y resistencia a nitroimidazoles. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* **19**(3):114-124.

- Viikki M., Pukkala E., Nieminen P., Hakama M.** 2000. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncol.* **39**(1):71-75.
- Vukicevic J. & Jankicevic J.** 2003. Therapeutic aspects of trichomoniasis. *Srp Arh Celok Lek.* **131**(3-4):156-161.
- Waitz J. A., Moss E. L., Weinstein M. J.** 1971. Chemotherapeutic evaluation of clotrimazole (Baby b 5097, 1 (o-chloro-diphenylbenzyl) imidazole). *Appl Microbiol.* **22**:891-898.
- Wang C. C., McClelland R. S., Reilly M., Overbaugh J., Emery S. R., Mandaliya K., Chohan B., Ndinya-Achola J., Bwayo J., Kreiss J. K.** 2001. The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis.* **183**(7):1017-1022.
- Warton A. & Honigberg B. M.** 1983. Analysis of surface saccharides in *Trichomonas vaginalis* strains with various pathogenicity levels by fluorescein-conjugated plant lectins. *Z Parasitenkd.* **69**(2):149-159.
- Weihe J., Metelmann C., Borner K., Meingassner J., Orfanos C.E.** 1988. Metronidazole- resistant trichomoniasis and successful therapy following high dosage. *Hautarzt.* **39**:237-239.
- Weinstock H., Berman S., Cates W.** 2004. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspect Sex Reprod Health.* **36**(1):6-10.
- Wendel J. F., Cronn R. C., Alvarez I., Liu B., Small R. L., Senchina D. S.** 2002. Intron size and genome size in plants. *Mol Biol Evol.* **19**(12):2346-2352.
- Wendel K. A., Rompalo A. M., Erbelding E. J., Chang T.H., Alderete J. F.,** 2002. Double-stranded RNA viral infection of *Trichomonas vaginalis* infecting patients attending a sexually transmitted diseases clinic. *J Infect Dis.* **186**(4):558-561.

**Wiese W., Patel S. R., Patel S. C., Ohi C. A., Estrada C. A.** 2000. A meta-analysis of the Papanicolaou smear and wet mount for the diagnosis of vaginal trichomoniasis. *Am J Med.* **108**(4):301-308.

**Wilmott F. Say J. Downey D. Hookam A.** 1983. Zinc and recalcitrant trichomoniasis. *Lancet.* **i:1053.**

**Wolner-Hanssen P., Krieger J. N., Stevens C. E., Kiviat N. B., Koutsky L. Critchlow C., DeRouen T., Hillier S., Holmes K. K.** 1989. Clinical manifestations of vaginal trichomoniasis, *JAMA.* **261**(4):571-576.

**Woodcock K. R,** 1972. Two-day treatment with metronidazole in vaginal trichomoniasis. *Br J Vener Dis.* **48**(5):383-386.

**Yap E. H., Ho T. H., Chan Y. C., Thong T. W., Ng G. C., Ho L. C., Singh M.** 1995. Serum antibodies to *Trichomonas vaginalis* in invasive cervical cancer patients. *Genitourin Med.* **71 (6):402-404.**

**Yarlett N., Yarlett N. C., Lloyd D.** 1985. Ferredoxin- dependent reduction of nitroimidazole derivatives in drug resistant and susceptible strains of *Trichomonas vaginalis*. *Biochem Pharmacol.* **35:1703-1708.**

**Zhang T., Yang W. F., Ni Z. Z., Li F., Sun C. T., Jin H., Yu X. W., Wang F. Q., Han Z., Ren Y. H., Wang Y, Li X. C., Hu C. J., Gao Z. M.** 2005. Analysis on the relative factors of trichomonal vaginitis in married childbearing age women in rural impoverished area. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* **36**(1):101-104.

**Zhang Z. F., Begg C. B.**1994. Is *Trichomonas vaginalis* a cause of cervical neoplasia? Results from a combined analysis of 24 studies. *Int J Epidemiol.* **23**(4):682-690.

**Capítulo III**  
**Epidemiologia de *Trichomonas vaginalis***  
**em mulheres**

**Epidemiologia de *Trichomonas vaginalis* em mulheres**

Alves<sup>1</sup>, M.J.; Oliveira<sup>5</sup>, R.; Balteiro<sup>4</sup>, A.J.; Pereira<sup>2</sup>, M.J.; Cruz<sup>3</sup>, A.

<sup>1</sup> Maria José Gonçalves Alves – Técnica de Análises Clínicas de 2ª classe no Hospital Distrital de Chaves. Assistente de primeiro triénio na Escola Superior de Saúde de Bragança.

<sup>2</sup> Mário Jorge Verde Pereira Professor auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

<sup>3</sup> Agostinho Luís da Silva Cruz Professor Coordenador da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Superior Politécnico do Porto.

<sup>4</sup> Jorge Balteiro – Assistente de primeiro triénio na Escola Superior de Tecnologia de Saúde de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra.

<sup>5</sup> Rita Oliveira – Assistente do segundo triénio na da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Superior Politécnico do Porto.

*Artigo a submeter para publicação à*  
***Revista Portuguesa de Saúde Pública***

**Epidemiologia de *Trichomonas vaginalis* em mulheres**

Alves<sup>1</sup>, M.J.; Oliveira<sup>5</sup>, R.; Balteiro<sup>4</sup>, A.J.; Pereira<sup>2</sup>, M.J.; Cruz<sup>3</sup>, A.

<sup>1</sup> Maria José Gonçalves Alves - Técnica de Análises Clínicas de 2ª classe no Hospital Distrital de Chaves. Assistente de primeiro triénio na Escola Superior de Saúde de Bragança.

<sup>2</sup> Mário Jorge Verde Pereira Professor auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

<sup>3</sup> Agostinho Luís da Silva Cruz Professor Coordenador da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Superior Politécnico do Porto.

<sup>4</sup> Jorge Balteiro – Assistente de primeiro triénio na Escola Superior de Tecnologia de Saúde de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra.

<sup>5</sup> Rita Oliveira – Assistente de primeiro triénio na da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Superior Politécnico do Porto.

**Endereço para correspondência com a revista**

Maria José Gonçalves Alves

Rua Fonte do Leite Ed. Buenos Aires Bloco A, 3º esquerdo. 5400. 261Chaves

Telef: 963003736; 276318846

E-mail: [mjose@serviconta.com.pt](mailto:mjose@serviconta.com.pt)

## Introdução

A tricomoniose é uma das Doenças Sexualmente Transmitidas (DSTs) não viral mais comum em todo mundo, com uma incidência anual superior a 180 milhões de casos; sendo nos Estados Unidos a sua incidência estimada em 7,4 milhões de casos por ano (Weinstock, Berman e Cates., 2004). A Organização Mundial de Saúde estimou que esta infecção representa quase 50% de todas as DSTs com cura em todo o mundo (Cates, 1999).

Em populações não consideradas de risco a prevalência pode variar até 5% em países como Espanha (Barrio et al., 2002), Áustria (Stary, Kuchinka-Koch e Teodorowicz., 2002), Brasil (Andrea e Ansell, 2003), Estados Unidos da América (Miller et al., 2005), e a Nova Zelândia (Lo, Reid e Brokenshire., 2002), até valores da ordem de 12,9% em mulheres de zonas rurais da China (Zhang et al., 2005) e 16,1% no Norte da Austrália (Garrow, Smith, Harnett., 2002).

A infecção por *T. vaginalis* geralmente está geralmente associada com outras DSTs e é um marcador de comportamento sexual de risco (Lossick, 1989); como tal a maioria dos estudos são efectuados em populações consideradas de risco como prostitutas (Chen et al., 2005; Lee et al., 2005; Nessa et al., 2005), toxicodependentes (Plitt et al., 2005), reclusas com comportamentos sexuais de risco (Garcia et al., 2004), populações com baixo nível sócio económico (Crosby et al., 2002) e mulheres com HIV (Magnus et al., 2003; Kissinger et al., 2005).

Que seja do nosso conhecimento poucos têm sido os estudos epidemiológicos realizados acerca desta temática em Portugal, um dos quais apresenta taxas de prevalência de tricomoniose de 31,2%, mas numa população considerada de risco (reclusas com comportamentos sexuais de risco e outras DSTs), não existindo nenhuma investigação acerca da prevalência desta infecção na população em geral (Garcia et al., 2004).

A incidência desta parasitose depende de vários factores como a idade, actividade sexual, número de parceiros sexuais, outras DSTs, fase do ciclo menstrual, método de diagnóstico, condições sócio-económicas, uso de contracepção, raça, tipo de amostra entre outros (Petrin et al., 1998).

A prevalência elevada associada a graves complicações de saúde que a tricomoniose pode provocar como a transmissão do Vírus de Imunodeficiência Humana (HIV) (Sorvillo

et al., 2001), causa de baixo peso em bebés, nascimentos prematuros (Cotch et al., 1997), doença inflamatória pélvica atípica (Heine e McGregor., 1993), neoplasia cervical (Zhang e Begg, 1994) e infertilidade (Grodstein, Goldman e Cramer., 1993), bem como a percentagem elevada de casos assintomáticos e a baixa sensibilidade dos testes usados no diagnóstico desta parasitose traduzem necessidade da compreensão do perfil epidemiológico na população em geral. Deste modo, é importante a realização de estudos em populações não consideradas de risco para existir uma ideia acerca da prevalência desta parasitose em Portugal.

Assim, o objectivo deste estudo consistiu em determinar a prevalência da *T. vaginalis* em mulheres que frequentam a consulta de planeamento familiar nos Centros de Saúde (CS) N°1 e N°2 e Hospital em Chaves, e estabelecer uma possível associação desta parasitose com diferentes variáveis, como sejam as características sociodemográficas, a sintomatologia, o comportamento sexual e o histórico terapêutico desta infecção.



## **Material e Métodos**

### **Tipo de estudo**

Foi realizado um estudo transversal, analítico que decorreu de Fevereiro a Julho de 2005 na cidade de Chaves.

### **População em estudo e amostra**

#### *População em estudo*

Mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar entre Fevereiro e Julho de 2005 nos CS Nº1, CS Nº 2 e Hospital Distrital de Chaves, na cidade de Chaves.

#### *Amostra estudada*

Foram sujeitas a diagnóstico 288 mulheres com idades compreendidas entre 17 e os 60 anos, sintomáticas e assintomáticas (CS Nº1: n=190; CS Nº 2: n= 49; Hospital Distrital de Chaves: n=49).

### **Fase preparatória**

Para a realização do estudo foi obtida autorização (anexo I) dos directores do CSNº1, CSNº2 e do Hospital. A todas as pacientes foi pedido o consentimento informado para participar no estudo, sendo aplicado um inquérito.

### **Inquérito**

Foi aplicado pelos clínicos um questionário de resposta fechada com a excepção das variáveis (grau de escolaridade, idade e estado civil), anónimo, onde se definiam as seguintes variáveis:

- Idade; (expressa nas classes: 17-30, 31-40,41-50,51-60);
- Grau de escolaridade (Ensino Básico, Ensino Secundário, Ensino Politécnico /Universitário);
- Estado civil;
- Frequência das relações sexuais;
- Sintomatologia;

- Corrimento vaginal, corrimento abundante amarelo esverdeado, odor, vulvovaginite, prurido, dor durante o acto sexual, disúria, febre;
- Número de parceiros sexuais;
- Uso de preservativo;
- Uso de DIU;
- Terapêutica anterior para corrimento vaginal: antiparasitários (Metronidazol, Fluconazol, Tinidazol), anti-inflamatórios, cremes, outros;
- Tratamento do parceiro sexual;
- Gravidez.

### **Recolha e processamento das amostras**

As colheitas dos exsudados vaginais foram recolhidas pelos médicos depois da inserção do espéculo utilizando uma zaragatoa estéril. Estas foram inoculadas em meio de Stuart a 37°C, seguido de exame directo e cultura em meio TYM (Diamond et al., 1957) e incubadas a 37° C. Após 24 horas e diariamente, durante 6 dias após a sementeira, foi feito novo exame microscópico para pesquisa de trofozoítos (Barrio et al., 2002; Rivero et al., 2002).

### **Métodos Estatísticos**

A estratégia para o tratamento estatístico passa pela verificação da associação das variáveis descritas pelo método de independência do Qui-Quadrado ou pelo teste de Fisher, tendo-se adoptado como critério de decisão 0,05. Para o efeito utilizou-se o programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 11.5.

## **Resultados**

### **Frequência de tricomoniose**

Das 288 mulheres que aderiram ao estudo encontravam-se com tricomoniose 11 (3,8%). Dos casos positivos obtidos foram detectados 6 (55%) no CSNº 1, 3 (27%) no Hospital e apenas 2 (18%) no CSNº 2. Não existe qualquer diferença significativa entre os locais de recolha relativamente aos casos de tricomoniose sendo o  $p=0,624$

### **Idade**

A média de idades na totalidade da população foi de  $40,4 \pm 10,3$  anos com a amplitude entre os 17 e os 60 anos. Relativamente às mulheres parasitadas a média foi de  $41,4 \pm 7,6$ . Não foi observada qualquer relação estatisticamente significativa entre o número de mulheres parasitadas e a faixa etária ( $p=0,554$ ) (Tabela I).

### **Estado civil**

No que respeita ao estado civil (Tabela II) 8 (3,4%) eram casadas, as restantes eram solteiras e viúvas não existindo nenhuma divorciada. Neste caso o valor de  $p=0,713$  indica que não há diferenças estatisticamente significativas entre as classes de variáveis estado civil.

### **Grau de escolaridade**

No que respeita à variável “grau de escolaridade” (Tabela III), 75,8% das mulheres apresentavam apenas até 9 anos de escolaridade mínima obrigatória da totalidade da amostra. Somente 8,7% tinham grau académico superior. Relativamente às parasitadas verifica-se distribuição semelhante à amostra em geral.  $p=0,363$ .

### **Sintomatologia**

De entre os casos positivos apenas 54,5 % das mulheres eram sintomáticas sendo as restantes 45,5% assintomáticas, contudo não se observaram diferenças estatisticamente

significativas, isto é a fracção da amostra parasitada não difere em função da sintomatologia (Fisher;  $p=0,217$ ).

As mulheres com corrimento aparentemente apresentavam maior probabilidade (6,6%) de ter tricomoniase relativamente às restantes (2,2%), no entanto sendo o valor de (Fisher;  $p=0,106$ ), não há significado estatístico.

Dos 11 casos positivos apenas 3 (27,3%) tinham corrimento abundante amarelo esverdeado sugestivo de infecção por *T. vaginalis*. As mulheres com este corrimento vaginal característico apresentavam uma probabilidade cerca de 3 vezes maior de terem tricomoniase relativamente aos restantes casos; no entanto não há significado estatístico com  $p=0,073$ .

A proporção de mulheres parasitadas relativamente às não parasitadas não difere em função de variáveis como o prurido, odor, disúria, vulvovaginite, dor, febre (Tabela IV  $p>0,05$ ).

### **Comportamento sexual**

No que diz respeito ao comportamento sexual da população em geral trata-se de uma população na maioria sexualmente activa 214 (74,3%). Não há significado estatístico entre o número de casos positivos e ter relações sexuais com frequência ( $p=0,409$ ). Mulheres com mais de um parceiro sexual (27,3 %) demonstraram um risco de cerca de 17 vezes superior de ter tricomoniase relativamente às mulheres com um só parceiro sexual (Fisher;  $p=0,003$ ). Variáveis como o uso de DIU e preservativo não apresentaram relação estatisticamente significativa com o número de casos positivos ( $p>0,05$ ).

### **Histórico do tratamento para o corrimento vaginal**

Dos casos positivos 54,5% das mulheres já tinham sido medicadas para o corrimento vaginal, destas 18,2% tinham sido medicadas com metronidazol no passado (Tabela V). O uso de cremes vaginais parece predispor as mulheres a um risco cerca de 4 vezes superior relativamente às mulheres que não usaram cremes vaginais (Fisher;  $p=0,055$ ), isto é o uso de creme poderá promover infecção por *T. vaginalis* nas mulheres (Tabela VI).

## **Discussão**

Pelo facto da tricomoniose ser uma Doença Sexualmente Transmitida (DST) facilmente diagnosticada e tratada, recebeu pouco ênfase dos programas de controlo de doenças sexualmente transmitidas (DSTs) em Saúde Pública. Contudo, o aparecimento de taxas de prevalência elevada, a associação da tricomoniose com resultados adversos na gravidez e com a transmissão do vírus HIV, tem levado a uma reunião de esforços no controlo da infecção (Schwebke e Burgess, 2004).

Praticamente, todos os estudos de prevalência desta infecção utilizam populações muito dispersas e com sintomatologia ou outras DSTs. Acresce ao problema o facto de serem usadas diferentes metodologias com oscilantes graus de sensibilidade no diagnóstico da tricomoniose. Desta forma, ao fazer uma revisão epidemiológica desta parasitose a nível mundial regista-se uma amplitude excessiva na prevalência desta infecção.

No presente trabalho, em 288 mulheres submetidas a diagnóstico foram detectados 11 casos positivos (3,8%) o que evidencia uma prevalência mais elevada do que a descrita por outros autores como Barrio e colaboradores (2002) em Espanha com uma prevalência de 1,2%, nos EUA 3,1% (Shrader, Hernandez e Gaughan., 2003), na Nova Zelândia 2,2% (Lo, Reid e Brokenshire., 2002), no Brasil 2,3% (Andrea & Ansell, 2003), na Tanzânia 2,7% (Kapiga et al., 2005), Nigéria 1,9 (Kehinde e Lawoyin, 2005), na Arábia Saudita 0,7% (Alzanbagi, Salem e Al Braiken., 2005). Prevalências inferiores são encontradas em estudos como o de Lobo e colaboradores (2003) no Brasil com prevalência de 6%, Estados Unidos América 9,1% e 5% (Madico et al., 1998; Brown et al., 2004), Reino Unido 5,4% (Adu-Sarkodie et al., 2004), Austrália 16,1% e 24,6% (Garrow, Smith e Harnett., 2002; Knox et al., 2002), Egipto 7,7% (Mahmound et al., 1999), Turquia 8,6% (Sakru et al., 2005) entre outros.

De todos os estudos referidos anteriormente só alguns deles recorrem ao exame directo e ao exame cultural. É o caso de um estudo realizado em Madrid (Espanha), em mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar nos Centros de Saúde, onde foi detectada uma prevalência de 1,2%. Esta baixa prevalência, relativamente ao estudo actual pode dever-se ao melhoramento do acesso regular aos cuidados de saúde. Isto pode indiciar um melhoramento no controlo das DSTs em Espanha, o já referenciado por estes autores (Barrio et al., 2002).

Nos Estados Unidos, Swygard e seus colaboradores (2004) recorrendo às duas metodologias de diagnóstico utilizadas neste estudo, demonstraram uma prevalência de

17,5% em mulheres que consultaram clínicas para pesquisa de DSTs, o que contrasta com os nossos 3,8%. Esta diferença poderá ser devida ao tipo de população estudada, já que os autores americanos recorreram apenas a mulheres que acederam a clínicas para tratamento de DSTs, enquanto que a nossa amostra foi seleccionada aleatoriamente entre as que recorreram às consultas de planeamento familiar (sintomáticas e assintomáticas).

Ao contrário de outras DSTs, que apresentam prevalências elevadas entre adolescentes e jovens, as taxas de tricomoniose são distribuídas uniformemente entre mulheres sexualmente activas de todos os grupos etários (Lossick, 1989; Anorlu et al., 2001; Mahdi, Gany e Sharief., 2001). Em concordância com o referido, a proporção de mulheres parasitadas não difere em função da idade ( $p=0,554$ ). Em contraste com o presente trabalho, alguns autores observaram que a tricomoniose é mais frequente em mulheres mais novas (Mason et al., 2005; Smith et al., 2005), e que aumenta com a idade (Miller et al., 2005).

No que respeita ao estado civil, autores como Mason e seus colaboradores (2005); e Arambulo e seus colaboradores (1977) observaram maior prevalência em viúvas, divorciadas e solteiras e menor em casadas. No entanto, como mencionado na Tabela II não há relação estatística entre o estado civil e as mulheres com tricomoniose, dado observado por outros autores (Anorlu et al., 2001; Mahdi Gany e Sharief., 2001).

No Iraque Mahdi e seus colaboradores (2001) demonstraram que os casos positivos se distribuem uniformemente pelos diferentes graus de escolaridade, o que está de acordo com os dados deste estudo ( $p=0,363$ ).

Já Petrin e seus colaboradores (1998) observaram que das mulheres infectadas, entre 25 e 50% eram assintomáticas, com pH e flora vaginal normal. Também no presente estudo a taxa de mulheres assintomáticas é elevada 45,5%, tal como em estudos recentes que corroboram com uma percentagem de casos assintomáticos elevados 66,7% (Barrio et al., 2002), 34,9% (Garcia et al., 2004) 50,4% (Nessa et al., 2005). Assim, recorrendo à sintomatologia seriam diagnosticadas aproximadamente metade da totalidade das mulheres com infecção.

Os resultados obtidos para as mulheres com corrimento sugeriam maior probabilidade (6,6%) de ter tricomoniose relativamente às restantes (2,2%), no entanto, não existe significado estatístico ( $p=0,106$ ). Outros estudos contrariam esta ausência de relação entre o corrimento vaginal e os casos positivos (Anorlu et al., 2001; Wendel et al., 2002; Alzanbagi, Salem e Al Braiken., 2005; Mason et al., 2005). No entanto, Barrio e seus

colaboradores (2002) detectaram de entre as mulheres infectadas apenas 22,2% com corrimento vaginal.

Das que apresentavam corrimento, apenas 27,3% tinha corrimento amarelo esverdeado que durante muito tempo foi usado para fazer diagnóstico de certeza acerca da infecção por *T. vaginalis*. Outros estudos demonstram esta baixa prevalência (Lehker e Alderete, 2000; Anorlu et al., 2001).

Outras variáveis relativas à sintomatologia como prurido, odor, disúria, vulvovaginite e dor durante o acto sexual não apresentaram relação estatisticamente significativa com o número de casos positivos sendo o ( $p>0,05$ ). Outros estudos corroboram com o referido anteriormente (Arambulo et al., 1977; Barrio et al., 2002; Alzanbagi, Salem e Al Braiken., 2005).

Estes dados reforçam a percepção de que a sintomatologia que durante anos foi a base para o diagnóstico da tricomoniose, actualmente não deve ser usada isoladamente. Se das 288 mulheres que fazem parte do estudo fossem apenas recrutadas as sintomáticas teríamos detectado apenas 6 casos dos 11 positivos. As mulheres embora assintomáticas continuariam a ser um foco de infecção. Deve ser referido que o uso da sintomatologia para fazer o diagnóstico da tricomoniose ainda continua a ser usado no nosso país. Nos locais onde foi feita a colheita o diagnóstico ainda é efectuado com base na sintomatologia, uma vez que os centros de saúde não apresentam meios complementares de diagnóstico imediatos e gratuitos, sendo as doentes obrigadas a recorrer a laboratórios privados, apenas quando sintomáticas.

Sendo a tricomoniose uma infecção cuja principal forma de transmissão é venérea, as mulheres com mais que um parceiro sexual apresentam um risco de cerca 17 vezes superior relativamente às mulheres com parceiro único ( $p=0,003$ ). Esta relação estatisticamente significativa entre as mulheres com tricomoniose e parceiros sexuais múltiplos é visível em outros estudos (Crosby et al., 2002; Rivero et al., 2003; Mason et al., 2005). Anorlu e seus colaboradores (2001) bem como Garcia e seus colaboradores (2004) referem a ausência de significado estatístico entre o número de parceiros e os casos positivos

O uso de métodos anticoncepcionais como o preservativo ( $p=0,672$ ) e o DIU ( $p=0,735$ ) não apresentam nenhum significado estatístico com o número de casos positivos. Outros estudos são concordantes com os dados previamente referidos (Arambulo et al., 1977; Rivero et al., 2003; Agarwal, Sharma e Acharya., 2004; Garcia et al., 2004).

Pelo facto de a sintomatologia desta parasitose ser facilmente confundida com outras DSTs, muitas vezes baseados apenas na sintomatologia, os clínicos medicam sem

diagnóstico laboratorial. Este acto poderá explicar a taxa de 54,6% de mulheres medicadas para o corrimento vaginal anteriormente e na actualidade com tricomoniose. Destas, 18,3% já tinham sido medicadas com metronidazol, no entanto, ignora-se se estas já apresentaram tricomoniose. Esta ausência de informação não permite pensar em possíveis reinfecções.

O uso de cremes vaginais parece predispor as mulheres a um risco cerca de 4 vezes maior relativamente às mulheres que não usaram cremes vaginais para cura do corrimento vaginal ( $p=0,055$ ). Mbizvo e seus colaboradores (2004) demonstraram que as mulheres que usavam “cleansing e herbs” intravaginais tinham maior probabilidade de ter vaginose. Sendo a tricomoniose uma das principais causas de vaginose, poderá existir alguma associação entre estes factores. Uma hipótese a explorar em estudos futuros poderá traduzir-se no facto de os cremes matarem a flora normal facilitando a proliferação da *T. vaginalis*, no entanto outros estudos terão que ser efectuados para se poderem tirar elações acerca deste resultado.

De entre as não parasitadas a taxa de mulheres (13%) que tomaram no passado metronidazol para o corrimento vaginal, pode por um lado, explicar a baixa prevalência aqui verificada relativamente a outros trabalhos, por outro lado partindo do pressuposto que o metronidazol em situações de corrimento vaginal só é usado para tratamento desta infecção demonstra a existência de uma taxa de tricomoniose elevada no passado.

Embora existam alguns estudos publicados acerca da prevalência da tricomoniose noutros países (Lo, Reid e Brokenshire., 2002; Barrio et al., 2002; Andrea e Ansell, 2003; Shrader, Hernandez e Gaughan., 2003; Alzanbagi, Salem e Al Braiken., 2005; Kapiga et al., 2005; Kehinde e Lawoyin, 2005; Sakru et al., 2005) em Portugal e que seja do nosso conhecimento, poucos têm sido os estudos epidemiológicos publicados relativamente a esta temática nos últimos anos (Garcia et al., 2004). Este facto dificulta a avaliação da evolução da prevalência desta parasitose no nosso país.

Tratando-se de um estudo cuja amostragem é pequena e de uma área geográfica restrita há que ser cauteloso nas extrapolações que poderão ser feitas. No sentido de obter dados com grau superior de validade acerca da temática em causa dever-se-ia seleccionar uma amostra mais numerosa e mais abrangente a nível etário e a nível sócio económico, bem como a outras áreas geográficas. Embora a prevalência determinada neste estudo não seja alarmante, pode-se concluir a partir dos resultados obtidos, que existem mulheres contaminada completamente assintomáticas que funcionam como focos de infecção, que só foram diagnosticadas através do exame laboratorial. Assim, o



diagnóstico laboratorial é essencial, sendo por isso necessário recorrer a metodologias laboratoriais de elevada sensibilidade.

Por outro lado tornam-se urgentes desenvolver programas de rastreio efectuados em paralelo com os programas implantados para outras infecções como a *Chlamydia* na população em geral, para diagnóstico da tricomoniose visto que segundo os dados resultantes deste trabalho, esta não é restrita a determinados grupos populacionais; por outro lado é imperativo diminuir a taxa de casos assintomáticos, uma vez que estes constituem constantes focos de infecção.

Em suma, é necessário olhar para a tricomoniose como uma DSTs com alguma importância de entre as outras DSTs e através de outros estudos à posterior perceber qual o seu impacto a nível Nacional com o intuito de tomar medidas no sentido de diminuir ou mesmo eliminar esta parasitose.

Este estudo representa apenas um contributo salientando a necessidade de outros estudos se seguirem com o intuito de reavaliar o Tabela actual desta parasitose em Portugal, procurando identificar possíveis causas e focos de contaminação.

Mantêm-se ainda algumas questões em aberto quanto à sensibilidade da metodologia usada rotineiramente no diagnóstico laboratorial, tendo este por base apenas a sintomatologia. Adicionalmente será importante compreender se o tratamento com metronidazol aplicado actualmente apresenta falhas podendo levar a reinfecções e se na prática comum o tratamento dos parceiros sexuais é sempre respeitado.

Finalmente parece fundamental desencadear uma campanha de informação/sensibilização junto da população e particularmente dos clínicos acerca do elevado número de casos assintomáticos desta parasitose, bem com das consequências que daí podem advir.

Tabelas com títulos e legendas

Tabela I – Distribuição etária das mulheres parasitadas

<i>Idades</i>	<i>Mulheres</i>		Total
	Parasitadas (%)	Não parasitadas (%)	
17-30	1 (1,6%)	60 (98,4%)	61
31-40	5 (6,2%)	76(93,8%)	81
41-50	3 (3,3%)	89 (96,7%)	92
51-60	2 (3,7%)	52 (96,3%)	54
Total	11	277	288
			$\chi^2 = 2,091; p=0,554$

Tabela II – Estado civil das mulheres parasitadas

<b>Estado civil <sup>a</sup></b>	<b>Mulheres</b>		<b>Total</b>
	<b>Parasitadas</b>	<b>Não parasitadas</b>	
	<b>N (%)</b>	<b>(%)</b>	
<b>Solteira</b>	<b>2 (6,2%)</b>	<b>30 (93,8%)</b>	<b>32</b>
<b>Casada</b>	<b>8 (3,4%)</b>	<b>229 (96,6%)</b>	<b>237</b>
<b>Divorciada</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>5 (100%)</b>	<b>5</b>
<b>Viúva</b>	<b>1 (7,7%)</b>	<b>12 (92,3%)</b>	<b>13</b>
	$\chi^2=1,366; p=0,713$		

<sup>a</sup> 1 sem informação

Tabela III – Grau de escolaridade das mulheres parasitadas

<b>Grau de escolaridade</b>	<b>Mulheres</b>		<b>Total</b>
	<b>Parasitadas</b>	<b>Não parasitadas</b>	
	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	
<b>Ensino Básico</b>	<b>8 (3,8%)</b>	<b>202 (96,2%)</b>	<b>210</b>
<b>Ensino secundário</b>	<b>3 (7,0%)</b>	<b>40 (93,0%)</b>	<b>43</b>
<b>Ensino Politécnico /Universitário</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>24 (100%)</b>	<b>24</b>
	$\chi^2=2,026; p=0,363$		

Tabela IV – Sintomatologia das mulheres com parasitose.

<b>Sintomatologia</b>	<b>Mulheres</b>		<b>Total</b>
	<b>Parasitadas</b>	<b>Não parasitadas</b>	
	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	
<b>Corrimento vaginal</b>	<b>7 (63,3%)</b>	<b>99 (35,7%)</b>	<b>106 (36,8%)</b>
	Fisher; $p=0,60$		
<b>Corrimento amarelo esverdeado</b>	<b>3 (27,3%)</b>	<b>24 (8,7%)</b>	<b>27 (9,4%)</b>
	Fisher; $p=0,073$		
<b>Odor</b>	<b>2 (18,2%)</b>	<b>19 (6,9%)</b>	<b>21 (7,3%)</b>
	Fisher; $p=0,187$		
<b>Vulvovaginite</b>	<b>1 (9,1%)</b>	<b>21 (7,6%)</b>	<b>22 (7,6%)</b>
	Fisher; $p=0,589$		
<b>Prurido</b>	<b>1 (9,1%)</b>	<b>47 (17,0%)</b>	<b>48 (16,7%)</b>
	Fisher; $p=0,698$		
<b>Dor</b>	<b>1 (9,1%)</b>	<b>23 (8,3%)</b>	<b>24 (8,3%)</b>
	Fisher; $p=1,000$		
<b>Disúria</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>9 (3,2%)</b>	<b>9 (3,0%)</b>
	Fisher; $p=1,000$		
<b>Febre</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>0 (0%)</b>

**Tabela V – Comportamento sexual das mulheres parasitadas**

<b>Comportamento sexual</b>	<b>Mulheres</b>		<b>Total</b>
	<b>Parasitadas (%)</b>	<b>Não parasitadas (%)</b>	
<b>Relações sexuais com frequência</b>	<b>7 (63,6%)</b>	<b>207 (74,7%)</b>	<b>214 (74,3%)</b>
	$\chi^2=0,682$ ; $p=0,409$		
<b>Múltiplos parceiros sexuais</b>	<b>3 (27,3%)</b>	<b>6 (2,2%)</b>	<b>9 (3,1%)</b>
	Fisher ; $p=0,003$		
<b>Uso preservativo</b>	<b>2 (18,2%)</b>	<b>41 (14,8%)</b>	<b>43 (14,9%)</b>
	Fisher; $p=0,672$		
<b>Uso DIU</b>	<b>3 (27,3%)</b>	<b>68 (24,5%)</b>	<b>71 (24,7%)</b>
	Fisher; $p=0,735$		

Tabela VI – Histórico do tratamento para o corrimento vaginal

<b>Medicação anterior</b>	<b>Mulheres</b>		<b>Total</b>
	<b>Parasitadas (%)</b>	<b>Não parasitadas (%)</b>	
<b>Medicação para corrimento vaginal</b>	<b>6 (54,5%)</b> <i>Fisher; p=0,521</i>	<b>125 (45,1%)</b>	<b>131 (45,5%)</b>
<b>Metronidazol</b>	<b>2 (18,2%)</b> <i>Fisher; p=0,644</i>	<b>36 (13,0%)</b>	<b>38 (13,2%)</b>
<b>Fluconazol</b>	<b>1 (9,1%)</b> <i>Fisher; p=0,302</i>	<b>71 (25,6%)</b>	<b>72 (25,0%)</b>
<b>Tinidazol</b>	<b>0 (0%)</b> <i>Fisher; p =1,000</i>	<b>4 (1,4%)</b>	<b>4 (1,4%)</b>
<b>Antiinflamatórios</b>	<b>0 (0%)</b> <i>Fisher; p=1,000</i>	<b>7 (2,5%)</b>	<b>7 (2,4%)</b>
<b>Creμες</b>	<b>4 (36,4%)</b> <i>Fisher ; p=0,055</i>	<b>37 (13,4%)</b>	<b>41 (14,2%)</b>
<b>Outros</b>	<b>1 (9,1%)</b> <i>Fisher ; p=0,698</i>	<b>47 (17,0%)</b>	<b>48 (16,7%)</b>

### Epidemiologia de *Trichomonas vaginalis* em mulheres

**Abstract**–Tricomoniase is one of the illnesses sexually transmitted (DSTs) not viral most common in the whole world, with an annual incidence superior to 180 million cases. The world-wide organization of health esteemed that this infection explains almost 50% of all the DSTs with cure in the whole world. In Portugal few have been the works of epidemic character carried through on this parasitosis. Thus, the objective of this study consisted of determining the prevalence of *the T. vaginalis* in women who attended the consultation of family planning in the CS N°1 CS N°2 and the Hospital in Chaves, and establishing a possible association of this parasitism with sociodemographic characteristics, symptomatology, sexual behaviour and previous treatment of this parasitosis, through the reply to an inquiry. A sample of vaginal exsudado was collected in 288 symptomatic and asymptomatic women for research of *T. vaginalis* appealing to the direct and cultural examination. Of the 288 women who adhered to the study, 11 (3,8%) were found to have tricomoniase. Variables such as age, marital status, degree of education, use of contraceptive, do not present significant statistical results relatively to the number of positive cases. Among positive cases only 54,5% of the women were symptomatic being the remaining 45,5% asymptomatic. A statistical significant association was found between tricomoniase and multiple sexual partners. In result, there is a need for other studies to follow with the intention to reevaluate the current picture of this parasitosis in Portugal. Finally it seems fundamental to inform the population concerning the high asymptomatic cases of this parasitosis, as well as the consequences that may arise from it.

**Keywords:** *Trichomonas vaginalis*, epidemiology, prevalence, parasitism

### Epidemiologia de *Trichomonas vaginalis* em mulheres

**Resumo** – A tricomoniose é uma das Doenças sexualmente transmitidas (DSTs) não viral mais comum em todo mundo, com uma incidência anual superior a 180 milhões de casos. A organização mundial de saúde estimou que esta infecção explica quase 50% de todas as DSTs com cura em todo o mundo. Em Portugal poucos têm sido os trabalhos de carácter epidemiológicos realizados sobre esta parasitose. Assim, o objectivo deste estudo consistiu em determinar a prevalência da *T. vaginalis* em mulheres que frequentam a consulta de planeamento familiar nos CS N°1 CS N°2 e Hospital em chaves, e estabelecer uma possível associação desta parasitose com características sociodemográficas, sintomatologia, comportamento sexual e tratamento anterior desta parasitose, através da resposta a um inquérito. Foi recolhida uma amostra de exsudado vaginal em 288 mulheres sintomáticas assintomáticas para pesquisa de *T. vaginalis* recorrendo ao exame directo e cultural e aplicado um questionário. Das 288 mulheres que aderiram ao estudo encontravam-se com tricomoniose 11 (3,8%). De entre os casos positivos apenas 54,5% das mulheres eram sintomáticas sendo as restantes 45,5% assintomáticas. A proporção de mulheres parasitadas não difere em função da sintomatologia. Também variáveis como a idade, estado civil, grau de escolaridade, uso de contracepção, não apresentam resultados estatisticamente significativos relativamente ao número de casos positivos. A proporção de mulheres parasitadas difere em função da variável múltiplos parceiros sexuais. Mulheres com mais que um parceiro sexual possuem maior probabilidade de contrair a infecção. Em suma há necessidade de outros estudos se seguirem com o intuito de reavaliar o quadro actual desta parasitose em Portugal. Finalmente parece fundamental desencadear uma campanha de informação/sensibilização junto da população acerca do elevado número de casos assintomáticos desta parasitose, bem com das consequências que podem advir.

**Palavras chave:** *Trichomonas vaginalis*, epidemiologia, prevalência, parasitose



## Referências

**ADU-SARKODIE, Y.; OPOKU, B. K.; DANSO, K. A.; WEISS, H. A.; MABEY, D.** - Comparison of latex agglutination, wet preparation, and culture for the detection of *Trichomonas vaginalis*. *Sex Transm Infect.* 80:3 (2004) 201-203.

**AGARWAL, K.; SHARMA, U.; ACHARYA V.** - Microbial and cytopathological study of intrauterine contraceptive device users. *Indian J Med Sci.* 58:9 (2004) 394-399.

**ALZANBAGI, N. A.; SALEM, H. S.; AL BRAIKEN, F.** - Trichomoniasis among women with vaginal discharge in Jeddah city, Saudi Arabia. *J Egypt Soc Parasitol.* 35:3 (2005) 1071-1080.

**ANDREA, N. ; ANSELL, J.** - Management of thrombosis in the cancer patient. *J Support Oncol.* 4 (2003) 235.

**ANORLU, R. I.; FAGBENRO BEYIOKU, A. F.; FAGORALA, T.; ABUDU, O. O.; GALADANCI, H. S.** - Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in patients with vaginal discharge in Lagos, Nigeria. *Niger Postgrad Med J.* 8:4 (2001) 183-186.

**ARAMBULO, P. V.; CABRERA, B. D.; OSTERIA, T. S.; BALTAZAR, J. C.** - A comparative Study of *Trichomonas vaginalis* prevalence in Filipino women. *Southeast Asian J Trop MedPublic Health.* 8:3(1977) 298-302.

**BARRIO, A.G.; RUIZ, J.N.; PEREIRA, D.M.; GALLEGO, E. R.; FERNANDEZ, E.R.; ESCARIO, J.A.** - Biological Variability in clinical Isolates of *Trichomonas vaginalis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 97 (2002) 893-896.

**BROWN, H. L.; FULLER, D. D.; JASPER, L. T.; DAVIS, T. E.; WRIGHT, J. D.** - Clinical evaluation of affirm VPIII in the detection and identification of *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis*, and *Candida species* in vaginitis/vaginosis. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 12:1 (2004) 17-21.

**CATES W. JR.** - Estimates of the incidence and prevalence of sexually transmitted diseases in the United States. American Social Health Association Panel. *Sex Transm Dis.* 26:4Suppl (1999) S2-S7.

**CHEN, X. S.; YIN, Y. P.; LIANG, G. J.; GONG, X. D.; LI, H. S.; POUMEROL, G.; THUY, N.; SHI, M. Q.; YU, Y. H.** - Sexually transmitted infections among female sex workers in Yunnan, China. *AIDS Patient Care STDS.* 19:12 (2005) 853-860.

**COTCH, M. F.; PASTOREK, J. G.; NUGENT, R. P.; HILLIER, S. L.; GIBBS, R. S.; MARTIN, D. H.; ESCHENBACH, D. A.; EDELMAN, R.; CAREY, J. C.; REGAN, J. A.; KROHN, M. A.; KLEBANOFF, M. A.; RAO, A. V.; RHOADS, G. G.** - *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex Transm Dis.* 24:6 (1997) 353-360.

**CROSBY, R.; DICLEMENTE, R. J.; WINGOOD, G. M.; HARRINGTON, K.; DAVIES, S. L.; HOOK, E. W.; OH, M. K.** - Predictors of infection with *Trichomonas vaginalis*: a prospective study of low income African-American adolescent females. *Sex Transm Infect.* 78:5 (2002) 360-364.

**DIAMOND, L.S.** - The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. *J Parasitol.* 43:4 (1957) 488-490.

**GARCIA, A.; EXPOSTO, F.; PRIETO, E.; LOPES, M.; DUARTE, A.; CORREIA DA SILVA, R.** - Association of *Trichomonas vaginalis* with sociodemographic factors and other STDs among female inmates in Lisbon. *Int J STD AIDS.* 15:9 (2004) 615-618.

**GARROW, S. C.; SMITH, D. W. E.; HARNETT, G. B.** - The diagnosis of chlamydia, gonorrhoea, and trichomonas infections by self obtained low vaginal swabs, in remote northern Australian clinical practice. *Sex Transm Infect.* 78:4 (2002) 278-281.

**GRODSTEIN, F.; GOLDMAN, M. B. E.; CRAMER, D. W.** - Relation of tubal infertility to history of sexually transmitted diseases. *Am J Epidemiol.* 137:5 (1993) 577-584.

**HEINE, P. E.; MCGREGOR, J. A.** - *Trichomonas vaginalis*: a reemerging pathogen. *Clin Obstet Gynecol.* 36:1 (1993) 137-144.

**KAPIGA, S. H.; SAM, N. E.; MASENGA, E. J.; MANONGI, R.; SHAO, J. F.** - Risk factors for bacterial vaginosis among bar and hotel workers in Northern Tanzania. *East Afr Med J.* 82:2 (2005) 85-91.

**KEHINDE, A. O.; LAWYOIN, T. O.** - STI/HIV co-infections in UCH, Ibadan. Nigeria. *Afr J Reprod Health.* 9:1 (2005) 42-48.

**KISSINGER, P. J.; DUMESTRE, J.; CLARK, R. A.; WENTHOLD, L.; MOHAMMED, H.; HAGENSEE, M. E.; MARTIN, D. H.** - Vaginal swabs versus lavage for detection of *Trichomonas vaginalis* and bacterial vaginosis among HIV-positive women. *Sex Transm Dis.* 32:4 (2005) 227-230.

**KNOX, J.; TABRIZI, S. N.; MILLER, P.; PETOUMENOS, K.; LAW, M.; CHEN, S.; GARLAND, S. M.** - Practitioner-collected samples for detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis* by polymerase chain reaction among women living in remote areas. *Sex Transm Dis.* 29:11 (2002) 647-654.

**LEE, D. M.; BINGER, A.; HOCKING, J.; FAIRLEY, C. K.** - The incidence of sexually transmitted infections among frequently screened sex workers in a decriminalised and regulated system in Melbourne. *Sex Transm Infect.* 81:5 (2005) 434-436.

**LEHKER, M. W.; ALDERETE, J. F.** - Biology of trichomonosis. *Curr Opin Infect Dis.* 13:1 (2000) 37-45.

**LO, M.; REID, M.; BROKENSHIRE, M.** - Epidemiological features of women with trichomoniasis in Auckland sexual health clinics: 1998-99. *N Z Med J.* 115:159 (2002) U119.

**LOBO, T. T.; FEIJO, G.; CARVALHO, S. E.; COSTA, .P. L; CHAGAS, C.; XAVIER, J.; SIMOES-BARBOSA, A.** - A comparative evaluation of the Papanicolaou test for the diagnosis of trichomoniasis. *Sex Transm Dis.* 30:9 (2003) 694-699.

**LOSSICK, J. G** - Epidemiology of urogenital trichomoniasis. In: HONIGBERG B. M. (ed)- trichomonads parasitic in humans . New York :Springer- Verlag, 1989. NY pp.311-322.

**MADICO, G.; QUINN, T. C.; ROMPALO, A.; MCKEE, K. T.; GAYDOS, C. A.** - Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swab samples. *J Clin Microbiol.* 36:11 (1998) 3205-3210.

**MAGNUS, M.; CLARK, R.; MYERS, L.; FARLEY, T.; KISSINGER, P. J.** - *Trichomonas vaginalis* among HIV-Infected women: are immune status or protease inhibitor use associated with subsequent *T. vaginalis* positivity? *Sex Transm Dis.* 30:11 (2003) 839-843.

**MAHDI, N. K.; GANY, Z. H.; SHARIEF, M.** - Risk factors for vaginal trichomoniasis among Women in Basra Iraq women in Basra, Iraq. *East Mediterr Health J.* 7:6 (2001) 918-924.

**MAHMOUD, M. S.; ABDEL-AZIZ, S. S.; EL-SHERIF, E. A.; SWIDAN, K. H.** - Diagnosis of symptomatic and asymptomatic *Trichomonas vaginalis* infection by applying one tube nested PCR to vaginal discharge. *J Egypt Soc Parasitol.* 29:3 (1999) 1031-1046.

**MASON, P. R. ; FIORI, P. L. ; CAPPUCCINELLI, P. ; RAPPELLI, P., GREGSON, S.** - Seroepidemiology of *Trichomonas vaginalis* in rural women in Zimbabwe and patterns of association with HIV infection. *Epidemiol Infect.* 133:2 (2005) 315-323.

**MBIZVO, M. E.; MUSYA, S. E.; STRAY-PEDERSEN, B.; CHIRENJE, Z.; HUSSAIN, A.** - Bacterial vaginosis and intravaginal practices: association with HIV. *Cent Afr J Med.* 50:5-6 (2004). 41-46.

**MILLER, W. C.; SWYGARD, H.; HOBBS, M. M.; FORD, C. A.; HANDCOCK, M. S.; MORRIS, M.; SCHMITZ, J. L.; COHEN, M. S.; HARRIS, K. M.; UDRY, J. R.** - The prevalence of trichomoniasis in young adults in the United States. *Sex Transm Dis.* 32:10 (2005) 593-598.

**NESSA, K.; WARIS, S. A.; ALAM, A.; HUQ, M.; NAHAR, S.; CHAUDHURY, F. A.; MONIRA, S.; BADAL, M. U.; SULTANA, J.; MAHMUD, K. F.; DAS, J.; MITRA, D. K.; SULTAN, Z.; HOSSAIN, N.; RAHMAN, M.** - Sexually transmitted infections among brothel-based sex workers in bangladesh: high prevalence of asymptomatic infection. *Sex Transm Dis.* 32:1 (2005) 13-19.

**PETRIN, D.; DELGATY, K.; BHATT, R.; GARBER, G.** - Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev.* 11:2 (1998) 300-317.

**PLITT, S. S.; GARFEIN, R. S.; GAYDOS, C. A.; STRATHDEE, S. A.; SHERMAN, S. G.; TAHA, T. E.** - Prevalence and correlates of chlamydia trachomatis, neisseria gonorrhoeae, *Trichomonas vaginalis* infections, and bacterial vaginosis among a cohort of young injection drug users in Baltimore, Maryland. *Sex Transm Dis.* 32:7 (2005) 446-453.

**RIVERO, L. R.; CIRER, A. I.; PEREZ, C. S.; RAMOS, I. S.; NODARSE, J. F.** - Behavior of vaginal trichomoniasis in a group of adolescents. *Rev Cubana Med Trop.* 55:3 (2003). 179-184.

**RIVERO, L. R.; PENA, M. R.; PEREZ, C.S.; MONROY, S. P.; SARIEGO RAMOS, I.; NODARSE, J. F.** - Frequency of *Trichomonas vaginalis* infection in couples with fertility problems. *Rev Cubana Med Trop.* 54:2 (2002) 85-90.

**SAKRU, N.; TOZ, S. O.; YETKIN, A. C.; AKINCI, P. Y.; KIRCA, U.**- Increased sensitivity of *Trichomonas vaginalis* isolation from vaginal secretions by subsequent blind passage of preliminary negative cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 52:1 (2005) 75-76.

**SCHWEBKE, J. R.; BURGESS, D.** -Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev.* 17:4 (2004) 794-803.

**SCHMITZ, J. L.; COHEN, M. S.; HARRIS, K. M.; UDRY, J. R.**-The prevalence of trichomoniasis in young adults in the United States. *Sex Transm Dis.* 32:10 (2005). 593-598.

**SHRADER, S., HERNANDEZ, E., GAUGHAN, J** - Is there a seasonal difference in the detection of *Trichomonas Vaginalis* by cervical cytology? *Scientific World Journal.* 3 (2003) 45-50.

**SMITH, K. S.; TABRIZI, S. N.; FETHERS, K. A.; KNOX, J. B.; PEARCE, C.; GARLAND, S. M.**- Comparison of conventional testing to polymerase chain reaction in detection of *Trichomonas vaginalis* in indigenous women living in remote areas. *Int J STD AIDS.* 16:12 (2005) 811-815.

**SORVILLO, F.; SMITH, L.; KERNDT, P.; ASH, L.** - *Trichomonas vaginalis*, HIV, and African-Americans. *Emerg Infect Dis.* 7:6 (2001) 927-932.

**STARY, A.; KUCHINKA-KOCH, A. E.; TEODOROWICZ, L.-** Detection of *Trichomonas vaginalis* on modified Columbia agar in the routine laboratory. *J Clin Microbiol.* **40**:9 (2002) 3277-3280.

**SWYGARD, H.; MILLER, W. C.; KAYDOS-DANIELS, S. C.; COHEN, M. S.; LEONE, P. A.; HOBBS M. M.; SENA, A. C. -** Targeted screening for *Trichomonas vaginalis* with culture using a two step method in women presenting for STD evaluation. *Sex Transm Dis.* **31**:11 (2004) 659-664.

**WEINSTOCK, H.; BERMAN, S.; CATES, W. -** Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspect Sex Reprod Health.* 36:1 (2004) 6-10.

**WENDEL, K. A.; ROMPALO, A. M.; ERBELDING, E. J.; CHANG, T. H.; ALDERETE, J. F.-** Double-stranded RNA viral infection of *Trichomonas vaginalis* infecting patients attending a sexually transmitted diseases clinic. *J Infect Dis.* **186**:4 (2002) 558-561.

**ZHANG, T.; YANG, W. F.; NI, Z. Z.; LI, F.; SUN, C.T.; JIN, H.; YU, X. W.; WANG, F. Q.; HAN, Z.; REN, Y. H.; WANG, Y.; LI, X. C.; HU, C. J.; GAO, Z. M. -** Analysis on the relative factors of trichomonal vaginitis in married childbearing age women in rural impoverished area. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 36:1 (2005) 101-104.

**ZHANG, Z. F.; BEGG, C. B. -** Is *Trichomonas vaginalis* a cause of cervical neoplasia? Results from a combined analysis of 24 studies. *Int J Epidemiol.* 23: 4 (1994) 682-690.

## **Capítulo IV**

**Avaliação da prevalência de *Trichomonas vaginalis* pelos método directo e cultural**

**Avaliação da prevalência da *Trichomonas vaginalis* pelos métodos directo e cultural**

Alves<sup>1</sup>, M.J.; Balteiro<sup>4</sup>, A.J.; Oliveira<sup>5</sup>, R.; Pereira<sup>2</sup>, M.J.; Cruz<sup>3</sup>, A.

<sup>1</sup>Técnica de Análises Clínicas de 2ª classe no Hospital Distrital de Chaves. Assistente de primeiro triénio na Escola Superior de Saúde de Bragança.

<sup>2</sup> Professor auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

<sup>3</sup> Professor Coordenador da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Superior Politécnico do Porto.

<sup>4</sup>Assistente de primeiro triénio na Escola Superior de Tecnologia de Saúde de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra.

<sup>5</sup>Assistente de segundo triénio na da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Superior Politécnico do Porto.

*Submetido para publicação à revista*

**Revista Portuguesa de Clínica Geral**



**Avaliação da prevalência de *Trichomonas vaginalis* pelos métodos directo e cultural**

Alves<sup>1</sup>, M.J.; Balteiro<sup>4</sup>, A.J.; Oliveira<sup>5</sup>, R.; Pereira<sup>2</sup>, M.J.; Cruz<sup>3</sup>, A.

<sup>1</sup>Técnica de Análises Clínicas de 2ª classe no Hospital Distrital de Chaves. Assistente de primeiro triénio na Escola Superior de Saúde de Bragança.

<sup>2</sup> Professor auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

<sup>3</sup> Professor Coordenador da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Superior Politécnico do Porto.

<sup>4</sup>Assistente de primeiro triénio na Escola Superior de Tecnologia de Saúde de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra.

<sup>5</sup>Assistente de segundo triénio na da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Superior Politécnico do Porto.

**Endereço para correspondência com a revista**

Maria José Gonçalves Alves

Rua Fonte do Leite Ed. Buenos Aires Bloco A, 2º direito. 5400.261 Chaves

Telef:963003736; 276318846

E-mail : [mjose@serviconta.com.pt](mailto:mjose@serviconta.com.pt)

**Endereço para correspondência após publicação**

Maria José Gonçalves Alves

Rua Fonte do Leite Ed. Buenos Aires Bloco A, 2º direito. 5400. 261Chaves

Telef:963003736; 276318846

E-mail: [mjose@serviconta.com.pt](mailto:mjose@serviconta.com.pt)

## Avaliação da prevalência de *Trichomonas vaginalis* pelos métodos directo e cultural

**Abstract–Introduction:** Tricomoniase is the non viral sexually transmitted disease with greater prevalence in human beings. It presents a great variety of pathological manifestations, from the lack of symptoms to a state of severe pelvic inflammation and infertility.

Clinical signals and symptoms are neither sensible nor specific enough to be used alone in the diagnosis of tricomoniase, therefore the laboratorial diagnosis is fundamental in the detection of this parasitoses. The low sensibility of the methods used in the laboratorial diagnoses of this infection underestimates its prevalence.

**Aims:** Thereby, the objectives consisted in determining the prevalence of *Trichomonas vaginalis* in women appealing to the direct and cultural exam with the intention of verifying the concerning sensibilities. It was intended to demonstrate the importance of the sequential use of these two methodologies in the diagnosis of Tricomoniase.

**Methods:** The collection of vaginal exudates was performed in 288 women that attended the consultation of family planning at Health Center of nº1, health Center of nº 2 and District Hospital of Chaves, using two methodologies of diagnosis (Direct / Cultural methods).

**Results:** Of the 288 women inquired, the infection *T. vaginalis* was detected in 11 (3.8%) using the two methodologies. The infection was diagnosed by the direct method in 4 of the 11 women; however the cultural method (Half TYM) detected the 11 positive cases. In spite of being the most used method in the diagnosis of the tricomoniase, the direct method presented a sensibility of only 36.3%, with a specificity of 100%.

**Conclusions:** When comparing sensibilities, the sensibility of the cultural method is higher. The association of these two methodologies can be very useful in the diagnosis of the tricomoniase.

**Keywords** – *Trichomonas vaginalis*, Laboratorial diagnostic, Culture, Wet mount.

## **Avaliação da prevalência de *Trichomonas vaginalis* pelos métodos directo e cultural**

**Resumo–Introdução:** A tricomoniose é a doença sexualmente transmitida não viral de maior prevalência nos seres humanos. Apresenta grande variabilidade de manifestações clínicas, desde a ausência de sintomas a um elevado risco de inflamação pélvica e infertilidade. Sinais clínicos e sintomas não são nem sensíveis nem específicos o suficiente para serem usados isoladamente no diagnóstico da tricomoniose, como tal o diagnóstico laboratorial é fundamental na detecção desta parasitose. A baixa sensibilidade dos métodos usados no diagnóstico laboratorial desta infecção subestima a sua prevalência.

**Objectivos:** Consistiram em determinar a prevalência de *Trichomonas vaginalis* em mulheres recorrendo ao exame directo e cultural com intuito de verificar as respectivas sensibilidades. Foi propósito demonstrar a importância da utilização sequencial destas duas metodologias no diagnóstico da tricomoniose.

**Métodos:** As colheitas dos exsudados vaginais foram efectuadas em 288 mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar dos Centro de Saúde N°1, Centro de Saúde N°2 e Hospital Distrital de Chaves, recorrendo a duas metodologias de diagnóstico (método directo/cultural).

**Resultados:** Das 288 mulheres investigadas a infecção por *T. vaginalis* foi detectada em 11 (3,8%) recorrendo conjuntamente às duas metodologias. A infecção foi diagnosticada pelo método directo em 4 das 11 mulheres, no entanto o método cultural (Meio TYM) detectou os 11 casos positivos. Apesar de continuar a ser o mais utilizado no diagnóstico da tricomoniose o método directo apresentou uma sensibilidade de apenas 36,3%, com uma especificidade de 100%.

**Conclusão:** Pela comparação de sensibilidades é visível a elevada precisão do método cultural relativamente ao directo. A associação destas duas metodologias poderá ser uma mais valia no diagnóstico da tricomoniose.

**Palavras chave:** *Trichomonas vaginalis*, Diagnóstico laboratorial, Cultura, Exame directo.

## **Introdução**

*Trichomonas vaginalis* é um protozoário flagelado, elipsóide, periforme ou oval, responsável pela tricomoniose, doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum no mundo<sup>1, 2, 3</sup>.

A tricomoniose apresenta grande variabilidade de manifestações clínicas que vão desde a ausência de sintomas a um elevado risco de inflamação pélvica e infertilidade<sup>4</sup>. A esta parasitose estão associadas ainda outras complicações de saúde, parecendo promover a transmissão do vírus do HIV<sup>5,6,7</sup>, sendo causa de baixo peso em bebés, bem como de nascimentos prematuros<sup>8</sup>, neoplasia cervical<sup>9, 10</sup> e infertilidade<sup>11</sup>.

A apresentação clínica da infecção depende provavelmente do número e virulência do parasita e também da resistência do hospedeiro. Das mulheres infectadas, entre 25 e 50% são assintomáticas, apresentando pH e flora vaginal normal<sup>12</sup>.

Sinais clínicos e sintomas não são nem sensíveis nem específicos o suficiente para serem usados isoladamente no diagnóstico da Tricomoniose<sup>13</sup>.

O diagnóstico laboratorial da tricomoniose tem dependido tradicionalmente da observação microscópica da mobilidade do trofozoíto em secreções vaginais e do cervix, um procedimento que foi descrito por Donné em 1836<sup>14</sup>. Quando se observam células móveis, este método tem um elevado grau de especificidade (>95%), todavia um resultado negativo não elimina a possibilidade de tricomoniose<sup>15</sup>. É o método que apresenta menores custos, maior rapidez e facilidade de execução, no entanto apresenta sensibilidade limitada entre os 60 a 70%<sup>16</sup>.

Apesar de o método directo ser a metodologia mais usada para diagnóstico da tricomoniose nas unidades de saúde em Portugal e outros países, está longe de ser o melhor em termos de sensibilidade<sup>13</sup>. Diversos estudos, evidenciam a sua baixa sensibilidade relativamente a metodologias utilizando a Polimerase Chain Reaction (PCR) e cultura<sup>17, 18, 19</sup>.

O método de cultura é o padrão para o diagnóstico por ser simples de interpretar e requerer apenas 300 a 500 células de *T. vaginalis* por mililitro de inoculo para iniciar o crescimento<sup>12</sup>. A cultura em meio Diamond tem a capacidade de identificar até 95% das infecções por *T. vaginalis*, alcançando tanto um elevado grau de sensibilidade (85%-95%) como de especificidade (>97%)<sup>12</sup>. Há no entanto limitações inerentes ao diagnóstico por este exigir um período de incubação de 2 a 7 dias tempo durante o qual os pacientes

infectados continuam a disseminar a infecção<sup>12, 15</sup>. A alternativa ao método cultural inclui numa primeira fase uma triagem recorrendo ao exame directo, seguida pela cultura das amostras cujos resultados sejam negativos<sup>5</sup>. Esta abordagem é considerada uma mais valia no diagnóstico da tricomoniase<sup>20, 21</sup>; possibilitando nas situações de diagnóstico positivo por recurso ao exame directo o início imediato do tratamento.

Métodos de coloração como o que recorre à laranja de acridina<sup>17</sup> e o método de Papanicolau (Pap)<sup>19</sup>, comercialmente disponíveis, apresentam menor sensibilidade que a cultura associada ou não ao exame directo. Petrin e seus colaboradores<sup>12</sup> (1988) referem que as técnicas de DNA recombinante têm vindo a substituir as metodologias clássicas devido à sensibilidade e especificidade no diagnóstico de *T. vaginalis*. O Affim VP apresentou uma sensibilidade de 92% e uma especificidade de 98% comparado com o exame directo e uma sensibilidade de 92% e especificidade de 99% comparado com a cultura<sup>12</sup>.

O recurso às técnicas de PCR também se tem posicionado como alternativa de diagnóstico. Possuem sensibilidades muito próxima dos 100% mas estão ainda restritas a locais de investigação devido à complexidade técnica e elevados custos<sup>22</sup>. Nas mulheres esta metodologia não sugere vantagem no diagnóstico da tricomoniase relativamente ao método cultura<sup>17</sup>.

Assim, os objectivos consistiram em avaliar a prevalência de *T. vaginalis* em mulheres utilizando duas metodologias de diagnóstico (exame directo e cultural) e verificar as respectivas sensibilidades. Foi propósito demonstrar a importância da utilização sequencial destas duas metodologias no diagnóstico da tricomoniase.

## **Métodos**

### **Local e Duração do estudo**

A recolha de exsudados vaginais foi efectuada entre Fevereiro e Julho de 2005 em mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar dos Centros de Saúde Nº1, Centro de Saúde Nº2 e Hospital Distrital de Chaves, na cidade de Chaves. A componente laboratorial do estudo foi realizada no serviço de patologia clínica do Hospital Distrital de Chaves (pesquisa de *T. vaginalis* método directo e cultural).

### **População em estudo e amostra**

#### *População em estudo*

Mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar entre Fevereiro e Julho de 2005 nos Centros de Saúde Nº1, Centro de Saúde Nº 2 e Hospital Distrital de Chaves, na cidade de Chaves.

#### *Amostra estudada*

Foram sujeitas a diagnóstico 288 mulheres com idades compreendidas entre 17 e os 60 anos, sintomáticas e assintomáticas (Centro de Saúde Nº1: n=190; Centro de Saúde Nº 2: n= 49; Hospital Distrital de Chaves: n=49).

A todas as pacientes foi pedido o consentimento informado para participar no estudo, sendo aplicado um inquérito pelo clínico onde foram recolhidos alguns dados sócio demográficos, comportamento sexual, sintomas da doença, bem como de terapêutica administrada anteriormente.

### **Recolha e processamento das amostras**

Os exsudados vaginais foram recolhidos pelos médicos de clínica geral nos centros de Saúde e ginecologistas no Hospital depois da inserção do espéculo utilizando uma zaragatoa estéril. Esta foi inoculada em meio de Stuart a 37°C, seguido de exame directo

e cultura em meio TYM<sup>23</sup>. (Diamond, 1957). Após 24 horas e diariamente, durante 6 dias após a sementeira, foi efectuado novo exame microscópico<sup>4, 24</sup>.

### **Análise Estatística**

A análise estatística foi efectuada recorrendo ao programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 11.5.



## **Resultados**

Das 288 mulheres envolvidas no estudo 277 não apresentavam tricomoniose, sendo detectados 11 casos positivos em mulheres com uma idade média de 41,4 ( $\pm 7,6$ ) anos. Assim, a prevalência da *T. vaginalis* nesta população é de 3,8% recorrendo às duas metodologias laboratoriais exame directo e exame cultural.

A infecção foi diagnosticada pelo método directo em apenas 4 das 11 mulheres, no entanto o método cultural (Meio TYM) detectou os 11 casos positivos.

Apesar de continuar a ser o mais utilizado no diagnóstico da tricomoniose o método directo apresentou uma sensibilidade de apenas 36,3%, no entanto a sua especificidade é de 100%.

## **Discussão**

Sorvillo e seus colaboradores<sup>5</sup> (2001) têm demonstrado que o uso de metodologias com baixa sensibilidade na pesquisa da tricomoniose subestima a prevalência desta parasitose.

De entre essas metodologias o exame directo apresenta baixa sensibilidade; sendo esta altamente dependente da experiência do microscopista, do transporte adequado ao laboratório, bem como de um processamento laboratorial rápido antes do organismo perder a mobilidade<sup>25</sup>.

A maioria dos clínicos que pedem a pesquisa *T. vaginalis* em mulheres, recebem resultados provenientes de métodos de diagnóstico de baixa sensibilidade, tais como o exame directo. Acresce ao problema o facto de as mulheres assintomáticas raramente serem rastreadas<sup>26</sup>.

Contrariamente ao exame directo a cultura apresenta elevado grau de sensibilidade (85% - 95%) sendo considerada por muitos autores<sup>12, 15</sup>. O método de referência no diagnóstico da tricomoniose. Diferentes investigadores<sup>27, 28, 24</sup> consideram o método cultura uma excelente metodologia no diagnóstico da tricomoniose contudo há limitações que se traduzem na demora do diagnóstico e no seu custo<sup>12, 2</sup>.

Já em 2004 Swygard e seus colaboradores<sup>29</sup> tentaram desenvolver um modelo que permitisse às mulheres com exame directo negativo usufruir do método cultural; no entanto defendiam que só em situações especiais (uso de drogas, infecção anterior por *T. vaginalis*, entre outras) a que deveria ser usado o método cultural. Em 2005, Sakru e seus colaboradores<sup>20</sup>, para fazer o diagnóstico da tricomoniose, efectuaram em simultâneo o exame directo e o exame cultural em 93 mulheres. De todos os casos positivos (8,6%), recorrendo ao exame directo foram detectados apenas (3,2%), sendo os restantes (5,4%) detectados por cultura.

Através dos resultados obtidos neste estudo, recorrendo à associação destas duas metodologias, das 288 mulheres foram detectados 11 casos positivos, o que concede uma prevalência de 3,8%. No entanto, destes 11 casos apenas 4 foram detectados simultaneamente pelo exame directo e cultural, sendo os restantes 7 diagnosticados apenas pelo método de cultura. Assim, o recurso ao método directo isoladamente para o

diagnóstico laboratorial da tricomoniose detectaria uma prevalência de apenas 1,0%. Estas 7 mulheres de resultado positivo não seriam diagnosticadas continuando a ser possíveis focos de infecção.

No presente estudo considerando a cultura como “Gold Standard” a sensibilidade do exame directo foi de apenas 36,3%. Madico e seus colaboradores<sup>30</sup> (1998) demonstraram que mesmo o exame directo sendo feito à cabeceira do doente apresentava uma sensibilidade de apenas 36%.

Embora diferentes estudos<sup>4, 17, 24</sup> demonstrem a elevada sensibilidade do método cultural e os limites do exame directo, este continua a fazer parte da pratica clínica na pesquisa de tricomoniose em Portugal e em outros países, sendo a cultura por questões económicas, não implementada na prática clínica. Muitos resultados dados como negativos devido à baixa sensibilidade desta metodologia podem ser falsos negativos, sendo assim difícil tirar conclusões acerca da prevalência da tricomoniose em Portugal.

Advém ao problema o facto de existir uma elevada prevalência de casos assintomáticos e o único controlo efectuado às mulheres que frequentam a consulta de planeamento familiar ser o exame de PAP que apresenta, tal como o directo, baixa sensibilidade<sup>31, 19</sup>. Estes resultados sugerem que os parasitas com formas irregulares, sem núcleo e sem flagelos claramente definidos, bem como a lise induzida por bactérias no parasita, limitam a habilidade do PAP na detecção da *T. vaginalis*<sup>31</sup>.

Em suma, pela análise dos resultados obtidos é nítida a baixa sensibilidade do exame directo, bem como do PAP usado no controlo nas mulheres que frequentam as consultas de planeamento familiar, como tal é urgente que estas metodologia sejam substituídas no rastreio da tricomoniose. A associação do exame directo com o método cultural parece ter sucesso já que o directo permite, sempre que positivo, medicar imediatamente, no caso de resultado negativo efectua-se a confirmação por cultura, inibindo os falsos negativos. Por fim é urgente criar programas de prevenção e sensibilização com o intuito de informar a população acerca do elevado número de casos assintomáticos, bem como dos problemas associados a esta parasitose.

## **Referências Bibliográficas**

- 1- De Carli G. A.** *Trichomonas*. In: Neves, D.P. Parasitologia humana. São Paulo. Atheneu 2000; pp101-105.
- 2- De Carli G. A. & Tasca T.** *Trichomonas vaginalis*. In: De Carli, G.A. Parasitologia clínica: selecção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico das parasitoses humanas. São Paulo. Atheneu 2001; pp 453-467.
- 3- Gerbase A. C., Rowley J. T., Heymann D. H., Berkley S. F., Piot P.** Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs. *Sex Transm Infect* 1998; **74** (Suppl 1):S12-S16.
- 4- Barrio A. G., Ruiz J. N., Pereira D. M., Gallego E. R., Fernandez E. R., Escario J. A.** Biological Variability in clinical Isolates of *Trichomonas vaginalis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; **97**(6):893-896.
- 5- Sorvilho F., Smith L., Kerndt P., Ash L.** *Trichomonas vaginalis*, HIV, and African-Americans. *Emerg Infect Dis* 2001; **7**(6):927-932.
- 6- Fleming A.T. & Wesserheit J.N.** From epidemiological synergy to public health policy e practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex Transm Inf* 1999; **75**:3-17.
- 7- Laga M., Manoka A., Kivuvu M., Malele B., Tuliza M., Nzila N., Goeman J., Behets F., Batter V., Alary M.** Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS* 1993; **7**(1):95-102.
- 8- Cotch M. F., Pastorek J. G., Nugent R. P., Hillier S. L., Gibbs R. S., Martin D. H., Eschenbach D. A., Edelman R., Carey J. C., Regan J. A., Krohn M. A., Klebanoff M. A., Rao A. V., Rhoads G. G.** *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery: The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex Transm Dis* 1997; **24**(6):353-360.

- 9- Zhang Z. F. & Begg C. B.** Is *Trichomonas vaginalis* a cause of cervical neoplasia? Results from a combined analysis of 24 studies. *Int J Epidemiol* 1994; **23**(4):682-690.
- 10- Kharsany A. B., Hoosen A. A., Moodley J., Bagaratee J., Gouws E.** The association between sexually transmitted pathogens and cervical intra-epithelial neoplasia in a developing community. *Genitourin Med* 1993; **69**(5):357-360.
- 11- Grodstein F., Goldman M. B., Cramer D. W.** Relation of tubal infertility to history of sexually transmitted diseases. *Am J Epidemiol* 1993; **137** (5):577-584.
- 12- Petrin D., Delgaty K., Bahatt R., Gaber G.** Clinical and microbiological aspects of *Tricomonas vaginalis*. *Clin Microbial rev* 1998; **11**:300-317.
- 13- Sobel J. D.** Vaginitis. *N Engl J Med* 1997; **337**(26):1896-1903.
- 14- Donné M. A.** Animacules observes dans les matières purulents et le produit des secrétions des organes génitaux l'homme et de la femme. *C R Acad Sci* 1836; **3**:385-386.
- 15- Lossick J. G. & Kent H. L.** Trichomoniasis: trends in diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol* 1991; **165**(4 Pt 2):1217-1222.
- 16- Krieger J. N., Tam M. R., Stevens C. E., Nielsen I. O., Hale J., Kiviat N. B., Holmes K. K.** Diagnosis of trichomoniasis. Comparison of conventional wet-mount examination with cytologic studies, cultures, and monoclonal antibody staining of direct specimens. *JAMA* 1988; **259**(8): 1223-1227.
- 17- Radonjic I. V., Dzamic A. M., Mitrovic S. M., Arsic Arsenijevic V. S., Popadic D. M., Kranjcic Zec I. F.** Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006; **126**(1):116-120.
- 18- Churakov A. A., Kulichenko A. N., Suvorov A. P., Glybochko P. V., Kuttyrev V. V.** Comparative assessment of the diagnostic value of the laboratory diagnostic methods for trichomoniasis. *Med Parazitol (Mosk)* 2005; **3**: 22-25.

- 19- Wiese W., Patel S. R., Patel S. C., Ohl C. A., Estrada C. A.** A meta-analysis of the Papanicolaou smear and wet mount for the diagnosis of vaginal trichomoniasis. *Am J Med.* 2000; **108**(4):301-308.
- 20- Sakru N., Toz S. O., Yetkin A. C., Akinci P. Y., Kirca U.** Increased sensitivity of *Trichomonas vaginalis* isolation from vaginal secretions by subsequent blind passage of preliminary negative cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; **52**(1):75-77.
- 21- Negm A. Y. & El-Haleem D. A.** Detection of trichomoniasis in vaginal specimens by both conventional and modern molecular tools. *J Egypt Soc Parasitol* 2004; **34**(2):589-600.
- 22- Leherker M. W. & Alderete J. F.** Biology of trichomonosis. *Curr Opin Infect Dis* 2000; **13**(1):37-45.
- 23- Diamond L. S.** The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. *J Parasitol* 1957; **43**(4):488-490.
- 24- Rivero L. R., Pena M. R., Perez C. S., Monroy S. P., Sariego Ramos I., Nodarse J. F.** Frequency of *Trichomonas vaginalis* infection in couples with fertility problems. *Rev Cubana Med Trop* 2002; **54**(2):85-90.
- 25- Heine P. & McGregor J. A.** *Trichomonas vaginalis*: a reemerging pathogen. *Clin Obstet Gynecol* 1993; **36**(1):137-144.
- 26- Huppert J. S., Batteiger B. E., Braslins P., Feldman J. A., Hobbs M. M., Sankey H. Z., Sena A. C., Wendel K. A.** Use of an immunochromatographic assay for rapid detection of *Trichomonas vaginalis* in vaginal specimens. *J Clin Microbiol* 2005; **3**(2):684-687.
- 27- Kissinger P. J., Dumestre J., Clark R. A., Wenthold L., Mohammed H., Hagensee M. E., Martin D. H.** Vaginal swabs versus lavage for detection of *Trichomonas vaginalis* and bacterial vaginosis among HIV-positive women. *Sex Transm Dis* 2005; **32**(4):227-230.

**28- Wendel K. A., Rompalo A. M., Erbelding E. J., Chang T. H., Alderete J. F.** Double-stranded RNA viral infection of *Trichomonas vaginalis* infecting patients attending a sexually transmitted diseases clinic. *J Infect Dis* 2002; **186**(4):558-561.

**29- Swygard H., Miller W. C., Kaydos-Daniels S. C., Cohen M. S., Leone P. A., Hobbs M. M., Sena A. C.** Targeted screening for *Trichomonas vaginalis* with culture using a two step method in women presenting for STD evaluation. *Sex Transm Dis* 2004; **31**(11):659-664.

**30- Madico G., Quinn T. C., Rompalo A., McKee K. T., Gaydos C. A.** Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swab samples. *J Clin Microbiol* 1998; **36**(11):3205-3210.

**31- Lobo T. T., Feijo G., Carvalho S. E., Costa P. L., Chagas C., Xavier J., Simoes-Barbosa A.** A comparative evaluation of the Papanicolau test for the diagnosis of trichomoniasis. *Sex Transm Dis* 2003; **30**(9):694-699.

**Capítulo V**  
**Sensibilidade de *Trichomonas***  
***vaginalis* ao metronidazol**



### **Sensibilidade de *Trichomonas vaginalis* ao metronidazol**

Alves<sup>1, +</sup>, M.J.; Balteiro<sup>4</sup>, A.J.; Oliveira<sup>3</sup>, R.; Pereira<sup>2</sup>, M.J.; Cruz<sup>3</sup>, A.

<sup>1</sup>Hospital Distrital de Chaves, Laboratório de Patologia Clínica, 5400-485 Chaves, Portugal

<sup>2</sup>Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

<sup>3</sup>Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto, Instituto Politécnico do Porto, 4000-294 Porto, Portugal

<sup>4</sup>Escola Superior de Tecnologia de Saúde de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, 3040-947 Coimbra, Portugal

*Artigo submetido para publicação à revista*

**Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**

### **Sensibilidade de *Trichomonas vaginalis* ao metronidazol**

Alves<sup>1, +</sup>, M.J.; Balteiro<sup>4</sup>, A.J.; Oliveira<sup>3</sup>, R.; Pereira<sup>2</sup>, M.J.; Cruz<sup>3</sup>, A.

<sup>1</sup> Laboratório de Patologia Clínica, Hospital Distrital de Chaves, 5400-485 Chaves, Portugal

<sup>2</sup>Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

<sup>3</sup>Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto, Instituto Politécnico do Porto, 4000-294 Porto, Portugal

<sup>4</sup>Escola Superior de Tecnologia de Saúde de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra, 3040-947 Coimbra, Portugal

#### **<sup>+</sup> Endereço para correspondência com a revista**

Maria José Gonçalves Alves

Rua Fonte do Leite Ed. Buenos Aires Bloco A, 2º direito. 5400. 580 Chaves

Telef:963003736; 276318846

E-mail: [mjose@serviconta.com.pt](mailto:mjose@serviconta.com.pt)

### Sensibilidade de *Trichomonas vaginalis* ao metronidazol

**Abstract** – The *T. vaginalis* is a parasite that infects the human urogenital zone and causes tricomoniase, the most frequent non- viral worldwide sexually transmitted disease. Although metronidazol successfully treats approximately 90-95% of infections; currently it is known that it does not cure all the patients and cases of resistance are increasing. Therefore, the present study focused on isolation and acquisition of axenic cultures from *T. vaginalis* starting with a sample from 288 women who attended the family planning consultation at the CSN°1 CSN°2 and the Hospital in Chaves. Of the 11 positive isolated ones only 9 had been axenized. Sensitivity to metronidazol was determined appealing to the IC<sub>50</sub> to the determination of the MLC. The IC<sub>50</sub> shows a variation between 1,8 to 4,2 µM. In that it respects to the MLC the values oscillate between 3,9 and 31,2 µM. MLC values, superior to 292 µM, obtained in aerobiose, give a good indication of a significant clinical resistance, being so we can conclude that in the present study all the isolated ones are sensible to metronidazol. Although, the isolated ones acquired did not show resistance to metronidazol, it is urgent to enlarge the studied samples and test isolated ones with clinical resistance thus allowing to improve the treatment forms.

**Keywords:** *Tricomonas vaginalis*, metronidazol, Sensibility Assays.

### Sensibilidade de *Trichomonas vaginalis* ao metronidazol

**Resumo** – A *T. vaginalis* é um flagelado unicelular que parasita a zona urogenital humana e provoca tricomoniose, doença sexualmente transmitida não viral mais comum em todo o mundo. Embora o metronidazol trate com sucesso aproximadamente 90 a 95% das infecções; actualmente é sabido que não cura todos os pacientes e os casos de resistência estão a aumentar. Assim, constituíram objectivos deste trabalho o isolamento e obtenção de culturas axénicas de *T. vaginalis* a partir de uma amostra de 288 mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar dos Centros Saúde e Hospital em Chaves e a determinação da sensibilidade ao metronidazol dos isolados obtidos. Dos 11 isolados positivos apenas 9 foram axenizados. A sensibilidade/resistência ao metronidazol foi determinada recorrendo ao  $IC_{50}$  e à determinação da MLC. A  $IC_{50}$  apresenta uma variação entre 1,8 a 4,2 $\mu$ M. No que respeita à MLC os valores oscilam entre 3,9 e 31,2 $\mu$ M. Valores de MLC > a 292 $\mu$ M em aerobiose dão boa indicação de resistência clínica significativa, assim concluímos que neste estudo todos os isolados são sensíveis ao metronidazol. Apesar dos isolados obtidos não apresentarem resistência, é urgente alargar a amostra estudada e testar isolados com resistência clínica permitindo melhorar as formas de tratamento.

**Palavras-chave:** *Trichomonas vaginalis*, metronidazol, Ensaio de Sensibilidade.

## Introdução

A *T. vaginalis* é um flagelado unicelular que parasita a zona urogenital humana e provoca tricomoniase, doença sexualmente transmitida não viral mais comum em todo o mundo (Petrin et al.1998). Apresenta grande diversidade de manifestações clínicas, desde a apresentação assintomática até um estado de severa inflamação (Barrio et al. 2002).

O metronidazol tem sido o antiparasitário mais usado no tratamento da tricomoniase, desde que foi introduzido em 1960 (Durel et al. 1960). Embora a primeira resistência tenha sido logo relatada em 1962, este antiparasitário ainda trata com sucesso aproximadamente 90 a 95% das infecções (CDC. 1993). Entretanto é sabido que o tratamento com metronidazol não cura todos os pacientes, e os casos de resistência estão a aumentar; segundo os Centros para Controlo da Doença e Prevenção (CDC) nos Estados Unidos para a avaliação de casos de resistência ao metronidazol em isolados clínicos ocorreu um aumento de pedidos de 15 casos em 1995 para 100 em 2003. Além do referido, o metronidazol pode provocar efeitos colaterais tais como desconforto, náuseas, problemas gastrointestinais, bem como reacções de hipersensibilidade que poderá impossibilitar o seu uso para tratar alguns indivíduos (Kurohara et al. 1991; Smilack et al. 1991). Frequentemente ocorrem falhas no tratamento devido à reinfeção ou à não adesão à terapêutica (Maciel et al. 2004). A maioria dos casos refratários responde habitualmente a doses mais elevadas do fármaco (Lossick et al. 1986), tornando-se, todavia, problemáticos devido ao aumento do risco de toxicidade (Petrin et al. 1998) e possível carcinogenicidade (Gerbase et al. 1998).

A resistência que tem vindo a ser detectada tem sido diversificada e deslocalizada. Em 2003 Vukicevic e Jankicevic descreveram os casos de resistência ao metronidazol durante o período (1999-2001) em Belgrado (Sérvia). Dos 216 casos positivos para *T. vaginalis* três casos não foram curados mesmo recorrendo às três fases de tratamento impostas pela CDC. Tratava-se de uma resistência de baixo nível já que a cura destes casos foi obtida recorrendo a 3 doses dia de metronidazol durante dois dias. Estes autores concluíram ainda que a resistência ao metronidazol é mais elevada em doentes com poli-infecção do que aqueles que apresentam mono-infecção. Das e seus colaboradores (2005) em Birmingham (EUA) demonstraram uma prevalência de 1,7% de casos não respondedores às doses standards de metronidazol entre 1999 e 2002. Em

Inglaterra através de um estudo retrospectivo de casos de resistência clínica ao metronidazol entre 1994 e 2002 foram obtidos 11 casos de *T. vaginalis* metronidazol resistentes (Mammen-Tobin & Wilson 2005). Pérez e seus colaboradores em 2001 detectaram 2,2% de resistência ao metronidazol em isolados provenientes de prostitutas e mulheres com problemas ginecológicos em Oviedo Espanha. Em Portugal, que seja do nosso conhecimento, não existe nenhum estudo consistente acerca da resistência *in vivo* e *in vitro* ao metronidazol.

Embora não seja um problema alarmante o aparecimento de resistências ao metronidazol poderá tornar-se preocupante na medida em que todos os fármacos de que dispomos actualmente para a cura da tricomoniase são derivados dos 5-nitroimidazol, como tal apresentam o mesmo mecanismo de acção (Kulda 1999).

Tendo como fundamento o referido anteriormente os objectivos deste trabalho consistiram no isolamento e obtenção de culturas axénicas de *T. vaginalis* a partir de uma amostra de 288 mulheres que frequentaram a consulta de planeamento familiar dos Centros Saúde N°1 (CSN°1) e Centro Saúde N°2 (CSN°2) e Hospital em Chaves e a determinação da sensibilidade ao metronidazol dos isolados obtidos.

## Material e Métodos

### Antiparasitários

Foi utilizado o metronidazol (M1547). Foram preparadas soluções concentradas em dimetil sulfoxido (DMSO). A concentração final do DMSO nos tubos dos ensaios foi sempre inferior a 0,5%.

### Isolamento e axenização dos trofozoítos de *T. vaginalis*

Dos 11 isolados positivos obtidas a partir de um estudo epidemiológico em 288 mulheres que frequentavam a consulta de planeamento familiar do CSN<sup>o</sup>1, CSN<sup>o</sup>2 e Hospital Distrital de Chaves foram axenizados apenas 9 por sementeiras diárias em meio TYM contendo 500µg/ml de streptomomicina, 500 UI de Penicilina e 100, 000 UI/ml de nistatina (Barrio et al. 2002). Depois de axenizadas as células foram conservadas a 70°C em meio de cultura com DMSO (Wasley & Rayner 1970). Para realizar os testes de sensibilidade as aliquotas foram descongeladas e as culturas repicadas durante aproximadamente 7 dias. A presença de fungos e bactérias foi examinada cultivando amostras de todos os isolados de *T. vaginalis* em gelose de sangue e gelose de chocolate, em atmosfera rica em 5-10% de CO<sub>2</sub> (Meri et al. 2000).

### Ensaio de sensibilidade

A sensibilidade ao metronidazol foi determinada (Barrio e tal. 2002) através da sementeira de 500.00 células/ml em aliquotas contendo um volume final de 2 ml de meio TYM juntamente com diferentes concentrações de metronidazol (0,4µM até 62,5µM). Após 24 horas de exposição e depois de inactivar os trofozoítos com formaldeído a 2% realizou-se uma leitura em câmara de Newbauer para calcular a IC<sub>50</sub> (Cruz et al. 2003). Para a determinação da concentração mínima letal (MLC) centrifugaram-se os tubos após 24 h de exposição ao metronidazol, ao sedimento foi adicionado meio novo TYM livre de fármaco. Ao fim de 72 h verificou-se a existência de células móveis para as diferentes concentrações de metronidazol (Meri et al. 2000). A MLC corresponde à

concentração de metronidazol para a qual não existiam células móveis em meio livre de fármaco. Todos os ensaios foram executados em duplicado e repetidos duas vezes para cada isolado.

### **Análise estatística**

O Probit foi utilizado para calcular a concentração de droga que inibiu o crescimento a 50% dos trofozoitos de *T. vaginalis* (IC<sub>50</sub>) (Finney 1977).



## Resultados

A susceptibilidade dos 9 isolados de *T. vaginalis* ao metronidazol foi avaliado pela IC<sub>50</sub>, bem como através da MLC (Meri et al. 2000). Quer os valores da IC<sub>50</sub> quer os da MLC após exposição ao metronidazol são apresentados no Tabela I. Relativamente à IC<sub>50</sub> é visível alguma variação entre 1,8 a 4,2µM com uma média de 2,75µM e desvio padrão ±1,66. No que respeita à MLC os valores oscilam entre 3,9 e 31,2µM com uma média de 12,17µM e desvio padrão ± 3,49).

Segundo Krajden e seus colaboradores (1986), isolados que apresentem MLC superiores ou iguais a 292µM obtidos *in vitro* sob condições de aerobiose, são considerados resistentes. Assim, partindo deste pressuposto todos os isolados obtidos são sensíveis ao metronidazol.

## Discussão

Diferentes metodologias são usadas para realizar testes de sensibilidade *in vitro*; a ausência de uniformidade de critérios torna difícil retirar conclusões acerca dos casos resistentes ao metronidazol *in vitro* (Vazquez et al. 2001). Já em 1988 Lumsdem e seus colaboradores fizeram referência aos vários problemas inerentes aos estudos de sensibilidade *in vitro*: inóculo não padronizado, variabilidade no volume do meio de cultura usado, tipo de atmosfera de incubação, tipo de metodologia usada. Pela análise de diferentes estudos (Meri et al. 2000; Snipes et al. 2000; Sobel et al. 2001) é visível a variação de critérios: meio usado (TYM, Inpouch TV), diluições e concentrações usadas, tipo de leitura (câmara Neubauer, microscópio invertido, leitores de microplacas, ELISA), tempo de exposição ao fármaco (24 h, 48 h, 72 h, 5 dias, 10 dias), sensibilidade aeróbia ou anaeróbia e critérios de avaliação dos conceitos MLC, MIC e IC<sub>50</sub>. Ao serem analisados os diferentes trabalhos coloca-se muitas vezes uma questão de interpretação dos termos MLC e MIC. Certos autores (Snipes et al. 2000; Sobel et al. 2001; Crowell et al. 2003) definem MLC como a mais baixa concentração de metronidazol onde não há células móveis ao fim de 48 h na cultura.

Noutros estudos (Heyworth et al. 1980; Kulda et al. 1982; Borchardt et al. 1996; Meri et al. 2000; Rasoloson et al. 2002) a MLC é a mais baixa concentração na qual é inibido o crescimento mas em meio livre de fármaco. Quanto à MIC pode ser definida como a mais baixa concentração de fármaco na qual tem lugar o crescimento celular (Muller et al. 1988). Outros autores apresentam a MIC como a concentração mais baixa de droga onde se verifica a não mobilidade dos organismos (Meri et al. 2000; Chavalitsheewinkoon-Petmitr et al. 2003).

Tal como Borchardt e seus colaboradores (1996) também no presente estudo foi usada a MLC como sendo a mais baixa concentração na qual é inibido o crescimento da *T. vaginalis* mas em meio livre de fármaco ao fim de 72 h. Pela análise da Tabela I, no presente trabalho as MLC dos 9 isolados oscilam entre os 3,9 até 31,2µM, com uma média de 12,17µM. Meri e seus colaboradores (2000) utilizando o mesmo conceito de MLC mas com leitura ao fim de 5 e 10 dias detectaram para os isolados clinicamente sensíveis uma média de MLC de 4,3µM.

Outro aspecto conflituoso é estabelecer a partir de que valor um isolado é considerado resistente *in vitro*. Em 1991 Lossick & Kent estimaram que a resistência elevada ao

metronidazol (MLC > 400 µg/ml) ocorre 1 em cada 2000-3000 casos de tricomoniase. Muller e seus colaboradores (1988) sugerem que um isolado deve ser considerado resistente se a MLC for superior a 100 µg/ml em aerobiose e 3,1 µg/ml em anaerobiose. Mais recentemente (2000) foi proposto que poderia ser considerado resistente se superiores ou iguais 75 µg/ml em aerobiose mas com leitura ao fim de 24 h e superiores ou iguais a 15 µg/ml em anaerobiose e leitura às 48 h (Meri et al. 2000). Valores de MLC superiores ou iguais 292 µM (50 µg/ml) obtidos em aerobiose dão uma boa indicação de uma resistência clínica significativa (Lossick & Kent 1991; Krajden et al. 1986).

Meri e seus colaboradores (2000) demonstraram que as resistências aeróbias são 2-40 vezes maiores que em anaerobiose, por sua vez as resistências aeróbias correlacionam-se melhor com o grau de resistência clínica ao metronidazol. Tendo em consideração os autores referidos anteriormente pode-se concluir pela análise do Tabela I que nenhum dos 9 isolados apresenta resistência *in vitro* ao metronidazol.

No que respeita à IC<sub>50</sub> é visível que dos 9 isolados a maioria apresenta uma inibição do crescimento em 50% entre os 2 e os 3 µM. Apenas o isolado MACH0105 e o MACH0605 apresentam uma IC<sub>50</sub> à volta dos 4 µM, com uma MLC mais elevada entre os 15,6 e os 31,2 µM.

Barrio e seus colaboradores (2002), após testes de resistência ao metronidazol em 18 isolados clínicos concluíram, tal com no presente estudo, que os isolados eram sensíveis e ao fim de 24 h apresentavam inibição do crescimento com 3 µM, facto concordante com o estudo apresentado por Meingassner e seus colaboradores em 1978.

Embora os isolados obtidos apresentem sensibilidade ao metronidazol, estima-se que pelo menos 5% de todos os casos clínicos de tricomoniase são provocados por estirpes de *T. vaginalis* com alguma resistência ao metronidazol (Narcisi & Secor 1996; Petrin et al. 1998). A maioria destas estirpes apresentam uma resistência baixa ou moderada à droga, no entanto estirpes altamente resistentes por vezes são isoladas de pacientes. Assim, testar a sensibilidade ao metronidazol é importante na medida em que ajuda a determinar o tipo de tratamento a aplicar (Cudmore et al. 2004). Dada a importância destes testes é urgente que sejam protocoladas normas e regras de procedimento na sua execução, com o intuito de criar um método de referência que permita estabelecer comparações entre os diferentes estudos. Em casos refractários, o teste de sensibilidade deve ser prioritário antes de efectuar terapêutica.

Futuramente seria interessante investigar a diversidade genética dos isolados com o intuito de verificar semelhanças e diferenças (mutações) entre as estirpes sensíveis e resistentes ao metronidazol. Assim poderia ser possível criar um marcador para a

resistência o que levaria a novas e melhoradas estratégias de tratamento (Snipes et al. 2000).

Por outro lado a automatização destes ensaios de sensibilidade a antiparasitários seria uma mais valia, podendo o clínico tal como é efectuado em bacteriologia, pedir o perfil de sensibilidades/resistências aos diferentes princípios activos disponíveis para a terapêutica.

## Referências Bibliográficas

**Barrio AG, Ruiz JN, Pereira DM, Gallego ER, Fernandez ER, Escario JA** 2002. Biological variability in clinical Isolates of *Trichomonas vaginalis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **97**(6):893-896.

**Borchardt KA, Li Z, Zhang MZ, Shing H** 1996. An *in vitro* metronidazole susceptibility test for trichomoniasis using the InPouch TV test. *Genitourin Med* **72**(2):132-135.

**Centers for diseases Control and Prevention** 1993. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *Morb. Mortal. Wkly. Rep* **42**(RR-14):70-72.

**Chavalitshewinkoon-Petmitr P, Ramdja M, Kajorndechakiat S, Ralph RK, Denny WA, Wilairat P** 2003. In vitro susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to AT-specific minor groove binding drugs. *J Antimicrob Chemother* **52**(2):287-289.

**Crowell AL, Sanders-Lewis KA, Secor WE** 2003. *In vitro* metronidazole and tinidazole activities against metronidazole-resistant strains of *Trichomonas vaginalis*. *Antimicrob Agents Chemother* **47**(4):1407-1409.

**Cruz A, Isaura Sousa M, Azeredo Z, Carolina Silva M, Figueiredo de Sousa JC, Manso O, Cabral M.** 2003. Comparison between two common methods for measuring *Giardia lamblia* susceptibility to antiparasitic drugs in vitro. *Acta Top* **88**(2):131-5.

**Cudmore SL, Delgaty KL, Hayward-McClelland S F, Petrin DP, Garber GE** 2004. Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev* **17**(4):783-793.

**Das S, Huengsberg M, Shahmanesh M** 2005. Treatment failure of vaginal trichomoniasis in clinical practice. *Int J STD AIDS* **16**(4):284-286.

**De Carli GA**, 1992. Diagnóstico de Laboratório da tricomoníase urogenital. *Rev Bras Anal Clin*. **24**:47-52.

**Durel P, Roiron V, Sibouleta A, Borel LJ** 1960. Systemic treatment of human trichomoniasis with a derivative of nitro-imidazole. *Br J Vener Dis* **36**:21-26.

**Finney D** 1977. Probit analysis. New York, Cambridge. University Press.

**Gerbase AC, Rowley JT, Heymann DH, Berkley SF, Piot P** 1998. Global prevalence and incidence estimates of selected curable STDs. *Sex Transm Infect* **74**(Suppl 1):S12-S16.

**Heyworth R, Simpson D. McNeillage GJ, Robertson DH, Young H** 1980. Isolation of *Trichomonas vaginalis* resistant to metronidazole. *Lancet* **2**(8192):476-478.

**Krajden S, Lossick JG, Wilk E, Yang J, Keystone JS, Elliott K** 1986. Persistent *Trichomonas vaginalis* infection due to a metronidazole-resistant strain. *CMAJ* **134**(12):1373-1374.

**Kulda J** 1999. Trichomonads, hydrogenosomes and drug resistance. *Int J Parasitol* **29**(2):199-212.

**Kulda J, Vojtechovska M, Tachezy J, Demes P, Kunzova E** 1982. Metronidazole resistance of *Trichomonas vaginalis* as a cause of treatment failure in trichomoniasis – A case report. *Br J Vener Dis* **58** (6):394-399.

**Kurohara ML, Kwong FK, Lebherz TB, Klaustermeyer WB** 1991. Metronidazole hypersensitivity and oral desensitization. *J Allergy Clin Immunol* **88**(2):279-280.

**Lossick JG & Kent HL** 1991. Trichomoniasis: trends in diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol* **165**(4 Pt 2):1217-1222.

**Lossick JG, Muller M, Gorrell TE** 1986. *In vitro* drug susceptibility and doses of metronidazole required for cure in cases of refractory vaginal trichomoniasis. *J Infect Dis* **153**(5):948-955.

**Lumsden WH, Robertson DH, Heyworth R, Harrison C** 1988. Treatment failure in *Trichomonas vaginalis* vaginitis. *Genitourin Med* **64**(4):217-218.

**Maciel GP, Tasca T, De Carli GA** 2004. Clinical aspects pathogenesis and diagnostic of *Trichomonas vaginalis*. *J. Bras. Patol. Med Lab* **40**(3):152-160.

**Mammen-Tobin A, Wilson JD** 2005. Management of metronidazole-resistant *Trichomonas Vaginalis*-a new approach. *Int J STD AIDS* **16**(7):488-490.

**Meingassner JG, Havelec L, Mieth H** 1978. Studies on strain sensitivity of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole. *Br J Vener Dis* **54**(2):72-76.

**Meri T, Jokiranta TS, Suhonen L, Meri S** 2000. Resistance of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole: report of the first three cases from Finland and optimization of *in vitro* susceptibility testing under various oxygen concentrations. *J Clin Microbiol* **38**(2):763-767.

**Muller M, Lossick JG, Gorrell TE** 1988. *In vitro* susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole and treatment outcome in vaginal trichomoniasis. *Sex Transm Dis* **15**(1):17-24.

**Narcisi EM & Secor WE** 1996. *In vitro* effect of tinidazole and furazolidone on metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Antimicrob Agents Chemother* **40**(5): 1121-1125.

**Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G** 1998. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev* **11**(2):300-317.

**Pérez S, Fernández-Verdugo A, Pérez F, Vázquez F** 2001. Prevalence of 5-nitroimidazoles-resistant *Trichomonas vaginalis* in Oviedo (Spain). *Sex Transm Dis* **28**(2):115-116.

**Rasoloson D, Vanacova S, Tomkova E, Razga J, Hrdy I, Tachezy J, Kulda J** 2002. Mechanisms of *in vitro* development of resistance to metronidazole in *Trichomonas vaginalis*. *Microbiology* **148** (8):2467-2477.

**Smilack JD, Wilson WR, Cockerill FR** 1991. Tetracyclines, chloramphenicol, erythromycin, clindamycin, and metronidazole. *Mayo Clin Proc* **66**(12):1270-1280.

**Snipes LJ, Gamard PM., Narcisi EM, Beard CB, Lehmann T, Secor WE** 2000. Molecular epidemiology of metronidazole resistance in a population of *Trichomonas vaginalis* clinical isolates. *J Clin Microbiol* **38**(8):3004-3009.

**Sobel JD, Nyirjesy P, Brown W** 2001. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis. *Clin Infect Dis* **33**(8):1341-1346.

**Vazquez F, Jose Garcia M, Perez F, Palacio V** 2001. *Trichomonas vaginalis*: treatment and resistance to nitroimidazoles. *Enferm Infecc Microbiol Clin* **19**(3):114-124.

**Vukicevic J & Jankicevic J** 2003. Therapeutic aspects of trichomoniasis. *Srp Arh Celok Lek* **131**(3-4):156-161.

**Wasley GD & Rayner CF** 1970. Preservation of *Trichomonas vaginalis* in liquid nitrogen. *Br J Vener Dis* **46**(4):323-325.



Tabela I-Susceptibilidade dos isolados clínicos de *T. vaginalis* ao metronidazol

Isolados	Metronidazol ( $\mu\text{M}$ )	
	IC <sub>50</sub>	MLC
MACH0105	3,9	15,6-31,2
MACH0205	1,8	3,9-4,8
MACH0305	2,7	7,8- 15,6
MACH0405	2,5	7,8- 15,6
MACH0505	3,2	15,6-31,2
MACH0605	4,2	15,6-31,2
MACH0705	2,2	7,8-15,6
MACH0805	3,7	7,8-15,6
MACH0905	3,3	7,8-15,6

- a) **MLC** – concentração de metronidazol para a qual não existiam células móveis de *T.vaginalis* em meio livre de fármaco.
- b) **IC<sub>50</sub>** – concentração de metronidazol em que ocorreu inibição do crescimento a 50 % dos trofozoitos de *T. vaginalis*.

## **Capítulo VI**

### **Discussão geral**

## Discussão geral

### Estudo epidemiológico

A quase inexistência de estudos epidemiológicos sobre a prevalência da tricomoniase em Portugal, dificulta a avaliação da prevalência desta parasitose no nosso país. Através do estudo realizado foi obtida uma prevalência de 3,8% de mulheres parasitadas que frequentavam a consulta de planeamento familiar dos CS Nº1, CS Nº2 e Hospital em Chaves. Em Portugal, o único estudo a que tivemos acesso apresenta uma prevalência mais elevada mas em mulheres com comportamentos sexuais de risco (Garcia et al., 2004). Estes resultados, sugerem que é importante repensar as estratégias de controlo desta infecção podendo salientar-se ainda que comportamentos sexuais de risco como ter parceiros múltiplos aumentam a probabilidade de ter tricomoniase, dado concordante com outros estudos efectuados (Crosby et al., 2002; Garcia et al., 2004; Mason et al., 2005).

Pela observação dos resultados transparece a elevada taxa de mulheres assintomáticas (45,5%) com tricomoniase, resultado preocupante, dado que cerca de metade das mulheres que se encontravam parasitadas não apresentavam sintomas. Na prática clínica estes casos apenas são rastreados recorrendo ao PAP, metodologia de baixa sensibilidade na detecção da *T. vaginalis* (Wiese et al., 2000) de todo insuficiente para um bom diagnóstico desta infecção.

De entre a sintomatologia variáveis como corrimento vaginal, corrimento amarelo esverdeado, odor, prurido, vulvovaginite, disúria entre outras não apresentam qualquer significado estatístico com o número de casos positivos. Estes dados reforçam a percepção de que a sintomatologia que, durante anos, foi a base para o diagnóstico da tricomoniase, actualmente não deve ser usada isoladamente para fazer o diagnóstico desta parasitose.

À semelhança do observado por outros autores (Anorlu et al., 2001; Mahdi et al., 2001) poderá tratar-se uma infecção cosmopolita, uma vez que atinge todas as idades, diferentes níveis de formação académica e diferentes estados civis.

Tratando-se de um estudo cuja amostra apresenta dimensão reduzida e sendo restrita a uma determinada área geográfica, à que ser prudente nas extrapolações que possam ser efectuadas. Futuramente, o estudo poderá recorrer a uma amostra mais numerosa e mais abrangente a nível nacional, permitindo actualizar não só o conhecimento epidemiológico mas também o estudo mais aprofundado das relações dos casos de

parasitismo com variáveis sócio económicas, histórico do parasitismo e terapêutica de cada mulher, bem como tratamento do parceiro sexual. Nesta linha, julgamos que seria interessante e útil estudar a inclusão no questionário de variáveis mais específicas acerca do nível sócio-económico. A inclusão da questão acerca de uma parasitose anterior teria maior interesse na medida em que nos permitiria avaliar melhor se o tratamento dos parceiros sexuais é respeitado. Um aumento da amostra e consequente aumento dos casos positivos permitiria verificar se o uso de cremes vaginais aumentam a predisposição das mulheres para possuir tricomoniase. Esta hipótese poderá ser testada em estudos futuros especificando qual o tipo de cremes usados.

### **Avaliação da sensibilidade exame directo/exame cultural**

Pela análise dos resultados obtidos no capítulo III é visível a inexistência de relação entre os casos com parasitose e a sintomatologia. Existe uma taxa elevada de mulheres com parasitose assintomática. Por outro lado, sintomas que eram considerados importantes para fazer diagnóstico de tricomoniase apresentam baixa taxa de prevalência nas mulheres parasitadas. Deste modo, o recurso a metodologias laboratoriais é obrigatório no diagnóstico desta parasitose. Acresce ao problema, o facto de algumas das metodologias existentes para o diagnóstico da tricomoniase apresentarem baixa sensibilidade. Na prática corrente o método directo é sem dúvida o mais usado, no entanto pela observação dos resultados é visível a baixa sensibilidade do exame directo relativamente ao cultural (Churakov et al., 2005). Pelo recurso ao exame directo seriam detectadas apenas 4 das 11 mulheres com tricomoniase, assim, na prática clínica mais de metade das mulheres com tricomoniase não são diagnosticadas, como tal não são tratadas funcionando como focos de infecção. Recorrendo apenas ao exame cultural foram detectados todos os casos positivos, sugerindo que esta metodologia é mais sensível, dado demonstrado por outros autores (Radonjic et al., 2006). A associação destas duas metodologias no diagnóstico da tricomoniase parece ser uma mais valia (Swygard et al., 2004; Sakru et al., 2005), porque o recurso primeiramente ao exame directo permite um diagnóstico e tratamento imediato. Por outro lado o uso do método cultural elimina o número de casos falsos negativos resultantes do exame directo. Talvez esta seja a melhor estratégia visto que o exame directo é de todas as metodologias a mais económica (Negm et al., 2004). A cultura apresenta sensibilidade semelhante à PCR (Radonjic et al., 2006), no entanto é menos dispendiosa.

Futuramente será desejável e necessária a realização de sessões de esclarecimento aos clínicos com o propósito de os sensibilizar para as vantagens e desvantagens das

diferentes metodologias e da sua executabilidade à realidade própria de cada estabelecimento.

### ***Testes sensibilidade da *T. vaginalis* ao metronidazol***

Desde 1960 que o metronidazol é o antiparasitário mais usado na terapêutica da tricomoniase (Lossick et al., 1991). Nas últimas décadas têm-se verificado um crescente número de casos resistentes ao metronidazol (Sobel, 2001). Situações problemáticas na medida em que o seu tratamento se pode revestir de um risco de toxicidade aumentado devido à necessidade de se recorrer a doses mais elevadas do fármaco (Petrin et al., 1998). A mutagenicidade demonstrada em bactérias e a carcinogenicidade verificada em ratos levou a classificar o metronidazol como um factor de risco durante a gravidez, sendo desaconselhado o seu uso no primeiro trimestre (Lindmark et al., 1976).

Foi demonstrado que as resistências clínicas supracitadas se traduzem muitas vezes em resistências *in vitro*. A resistência dos isolados de *T. vaginalis* ao metronidazol é definida pela determinação da Concentração Mínima Letal (MLC) sendo considerado com significado clínico os valores de MLC iguais ou superiores a 292µM (50µg/ml) obtidos em aerobiose (Lossick et al., 1991). Pelo recurso no presente estudo aos testes de sensibilidade *in vitro* verificou-se que todos os isolados obtidos são sensíveis ao metronidazol com MLC inferiores a 292µM.

Relativamente ao tratamento, seria uma mais valia para o trabalho verificar se a ocorrência de falência da terapêutica a existir se deve à resistência clínica ao metronidazol ou à reinfeção, tentando estabelecer relações entre as resistências clínicas e as verificadas *in vitro*, dados que devem constar em trabalhos futuros. Nesses trabalhos também poderá ser verificada a variabilidade genética associada à virulência.

A automatização dos testes de sensibilidade a antiparasitários seria um grande avanço no controlo desta parasitose. O recurso a testes de sensibilidade *in vitro* antes de efectuar tratamento permitiria uma reavaliação da terapêutica a administrar, possibilitando a adequação da dose a administrar ao caso clínico e a reduzir o aparecimento de resistências ao metronidazol.

## Referências Bibliográficas

**Anorlu R. I., Fagbenro Beyioku A. F., Fagorala T., Abudu O. O., Galadanci H. S.,** 2001. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in patients with vaginal discharge in Lagos, Nigeria. *Niger Postgrad Med J.* **8**(4):183-186.

**Crosby R., DiClemente R. J., Wingood G. M., Harrington K., Davies S. L., Hook E. W. 3rd, Oh M. K.,** 2002. Predictors of infection with *Trichomonas vaginalis*: a prospective study of low income African-American adolescent females. *Sex Transm Infect.* **78**(5):360-364.

**Churakov A. A., Kulichenko A. N., Suvorov A. P., Glybochko P. V., Kutyrev V. V.,** 2005. Comparative assessment of the diagnostic value of the laboratory diagnostic methods for trichomoniasis. *Med Parazitol (Mosk).* **3**:22-25.

**Garcia A., Exposto F., Prieto E., Lopes M., Duarte A., Correia da Silva R.,** 2004. Association of *Trichomonas vaginalis* with sociodemographic factors and other STDs among female inmates in Lisbon. *Int J STD AIDS.* **15**(9):615-618.

**Lindmark D. G. & Muller M.,** 1976. Antitrichomonad action, mutagenicity, and reduction of metronidazole and other nitroimidazoles. *Antimicrob Agents Chemother.* **10** (3):476-482.

**Lossick J. G. & Kent H. L.,** 1991. Trichomoniasis: trends in diagnosis and management. *Am J Obstet Gynecol.* **165**:1.217-1.222.

**Mahdi N.K., Gany Z.H., Sharief M.,** 2001. Risk factors for vaginal trichomoniasis among Women in Basra Iraq women in Basra, Iraq. *East Mediterr Health J.* **7**(6):918-924

**Mason P. R., Fiori P. L., Cappuccinelli P., Rappelli P., Gregson S.,** 2005. Seroepidemiology of *Trichomonas vaginalis* in rural women in Zimbabwe and patterns of association with HIV infection. *Epidemiol Infect.* **133**(2):315-323.

**Negm A. Y. & El-Haleem D. A.**, 2004. Detection of trichomoniasis in vaginal specimens by both conventional and modern molecular tools. *J Egypt Soc Parasitol.* **34**(2):589-600.

**Petrin D., Delgaty K., Bahatt R., Gaber G.**, 1998. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin microbial rev.* **11**:300-317.

**Radonjic I. V., Dzamic A. M., Mitrovic S. M., Arsic Arsenijevic V. S., Popadic D. M., Kranjcic Zec I. F.**, 2006. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **126**(1):116-120.

**Sakru N., Toz S. O., Yetkin A. C., Akinci P. Y., Kirca U.**, 2005. Increased sensitivity of *Trichomonas vaginalis* isolation from vaginal secretions by subsequent blind passage of preliminary negative cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **52** (1):75-76.

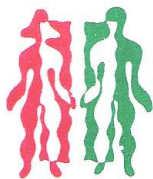
**Sobel J. D., Nyirjesy P., Brown W.**, 2001. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis. *Clin Infect Dis.* **33**(8):1341-1346.

**Swygard H., Miller W. C., Kaydos-Daniels S. C., Cohen M. S., Leone P. A., Hobbs M. M., Sena A. C.**, 2004. Targeted screening for *Trichomonas vaginalis* with culture using a two step method in women presenting for STD evaluation. *Sex Transm Dis.* **31**(11):659-664.

**Wiese W., Patel S. R., Patel S. C., Ohl C. A., Estrada C. A.**, 2000. A meta-analysis of the Papanicolau smear and wet mount for the diagnosis of vaginal trichomoniasis. *Am J Med.* **108**(4):301-8.

**Anexo**





CENTRO DE SAÚDE DE CHAVES Nº1

Exmº Srª

Drª Maria José Gonçalves. Alves

Laboratório de análises

Hospital Distrital de Chaves

5400 Chaves

Ref.23/Dir./2005

Data:20 de Janeiro de 2005

**Assunto: Trabalho de recolha**

Em resposta à solicitação por si apresentada para o trabalho de recolha de amostras de exsudado vaginal, tenho a informar que o Centro de saúde de Chaves nº 1, dá com agrado uma resposta positiva podendo contar com a colaboração de todos os profissionais cuja actividade possa interessar o respectivo estudo.

Com os melhores cumprimentos,

O Director;

*Dr.º Albino Leitão*  
Director do Centro de Saúde  
Chaves nº1  
(Drº Albino Carreiras Leitão)

Ao muito ilustre  
 Ex.º Senhor Presidente do  
 Conselho de Administração do  
 Hospital Distrital de Chaves

HOSPITAL DISTRITAL DE CHAVES	
Serviço de Pessoal	
Registo nº	2937
DATA	11/11/2004

Dado o requerimento  
 18/11/04

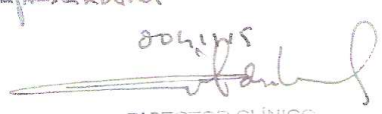
Maria José Gonçalves Alves, Técnica de Análises Clínicas e Saúde Pública no  
 Laboratório de Análises Clínicas, aluna do segundo ano do Mestrado em Toxicologia  
 vem respeitosamente solicitar a V.a Ex.a a autorização para efectuar a recolha de dados  
 e de amostras de exsudado vaginal das utentes que frequentam a consulta externa de  
 obstetria deste hospital, com intuito de determinar a incidência de *trichomonas*  
*vaginalis*.

Este trabalho consiste em detectar a incidência da *trichomonas vaginalis* e tentar obter  
 isolados da mesma para posteriormente serem efectuados testes de sensibilidade a  
 antiparasitários na Escola Superior de Saúde do Porto, para a realização da Tese de  
 Mestrado, sob a orientação do Professor Doutor Agostinho Silva.

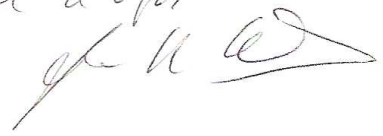
De referir que a realização deste trabalho além de não trazer qualquer custo para o  
 Hospital, não coloca questões éticas relacionadas com a colheita das amostras,  
 comprometendo-me então e desde já a não prejudicar o bom funcionamento do serviço.  
 Pede deferimento

Nada a opor por parte do Director Clínico, se  
 não houver inconveniente nem oposição por parte do  
 Serviço de Gín./Obstetria.

Chaves, 10 Novembro de 2004

Imprescindível a anuência do Sr. Dr. Almeida.  
 004115  
  
 DIRECTOR CLÍNICO  
 Dr. Gil Carlos Gonçalves Almeida

Maria José Gonçalves Alves  
 (Maria José Gonçalves Alves)

Nada a opor.  


Tomei conhecimento

Ex.mo Senhor Director do  
Serviço de Obstetrícia / Ginecologia  
do Hospital Distrital de Chaves

Maria José Gonçalves Alves, Licenciada em Análises Clínicas e Saúde Pública a exercer funções no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Distrital de Chaves, aluna do segundo ano do Mestrado em Toxicologia vem respeitosamente solicitar a V.<sup>a</sup> Ex.<sup>a</sup> a autorização para efectuar a recolha de dados e de amostras de exsudado vaginal das utentes que frequentam a consulta de planeamento familiar deste Hospital, com intuito de determinar a incidência de *Trichomonas vaginalis*.

Este trabalho consiste em detectar a incidência da *Trichomonas vaginalis* e tentar obter isolados da mesma para posteriormente serem efectuados testes de sensibilidade a antiparasitários na Escola Superior de Saúde do Porto, para a realização da Tese de Mestrado, sob a orientação do Professor Doutor Agostinho Silva.

De referir que a realização deste trabalho além de não trazer qualquer custo para o serviço, não coloca questões éticas relacionadas com a colheita das amostras, comprometendo-me então e desde já a não prejudicar o bom funcionamento do serviço.  
Pede deferimento

made alm  
19 29/3/05

Chaves, 28 de Março de 2005

Maria José Gonçalves Alves  
(Maria José Gonçalves Alves)